

ANDRESSA GIOVANNINI COSTA

**DESENVOLVIMENTO VEGETATIVO, RENDIMENTO E COMPOSIÇÃO DO ÓLEO
ESSENCIAL DE PATCHOULI APÓS ADUBAÇÃO NITROGENADA**

CURITIBA

2008

ANDRESSA GIOVANNINI COSTA

**DESENVOLVIMENTO VEGETAL, RENDIMENTO E COMPOSIÇÃO DO ÓLEO
ESSENCIAL DE PATCHOULI APÓS ADUBAÇÃO NITROGENADA**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Agronomia, área de concentração em Produção Vegetal, Departamento de Fitotecnia e Fitossanitarismo, Setor de Ciências Agrárias da Universidade Federal do Paraná, como parte dos requisitos para obtenção do título de mestre em Agronomia.

Orientador: Prof. Dr. Cícero Deschamps

CURITIBA
2008

Dedico a minha família. Ao meu pai e minha mãe pelo amor incondicional. A minha irmã, que apesar de nossas diferenças, foi fundamental nesta caminhada e agora me deu um presente maravilhoso, Murilo. Ao meu filho, meu alicerce, minha vida. Amo vocês !

AGRADECIMENTOS

Ao meu orientador, Cícero Deschamps, por ter acreditado e confiado em mim. Obrigado pela oportunidade que me foi dada.

À empresa Herbia Óleos Essenciais Ltda, em especial a Rafael e Gilberto Kraus, pela oportunidade, apoio financeiro e toda assistência no decorrer do projeto.

Aos colegas do laboratório de Ecofisiologia da UFPR por toda ajuda e bons momentos. A Rafaellen e Rodrigo por terem sido, além de colegas, bons amigos.

Aos amigos que fiz ao longo desses dois anos, em especial ao Christtianno, Gabriela e Silvana, que ajudaram amenizar a saudade de casa, sendo companheiros em todos os momentos.

A todos os professores, pelo conhecimento repassado, em especial a professora Katia Zuffellato-Ribas por ser além de mestre uma amiga.

Aos funcionários da UFPR, em especial ao Sr. Rainierio, Maria Emilia e Lucimara, sempre prontos para auxiliar no que fosse necessário.

A todos,

MUITO OBRIGADO!

RESUMO

O patchouli (*Pogostemon cablin* Beth) é uma planta aromática cuja importância comercial está no óleo essencial extraído das folhas, que apresenta como componente majoritário o patchoulol, conferindo à espécie uma vasta utilização na indústria de perfumaria, cosmética e fitoterápica. O presente trabalho teve como objetivo o efeito da adubação nitrogenada no desenvolvimento vegetativo, rendimento e composição do óleo essencial de patchouli. Inicialmente investigou-se o efeito de períodos de extração em hidrodestilação no rendimento e composição do óleo essencial do patchouli. O delineamento foi inteiramente casualizado, e os tratamentos consistiram de 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7 e 8 horas de extração, com três repetições. Dois experimentos foram conduzidos em condições de campo e em casa-de-vegetação, avaliando-se os efeitos de diferentes níveis de nitrogênio no metabolismo e desenvolvimento do patchouli, bem como no rendimento e composição do óleo essencial. O experimento a campo foi conduzido no município de Joinville-SC, em delineamento experimental de blocos ao acaso em parcelas subdivididas e 5 repetições, e 6 plantas úteis por parcela. Os diferentes níveis de adubação nitrogenada (30, 60, 90 e 120 Kg.ha⁻¹) no plantio e na manutenção da cultura, foram comparados quanto ao acúmulo de massa seca foliar e de ramos, número e comprimento de ramos, área foliar, rendimento, produtividade e composição de óleo essencial. O experimento em casa-de-vegetação, foi realizado em delineamento experimental inteiramente casualizado, com 5 repetições e 6 plantas por unidade experimental, comparando-se o efeito de níveis de adubação nitrogenada (0, 30, 60, 90 e 120 Kg.ha⁻¹). Além da análise de desenvolvimento (massa seca, número e comprimento de ramos, massa seca e número de folhas e área foliar), de rendimento, produtividade e composição de óleo essencial, foram feitas as quantificações dos teores de clorofilas totais, *a* e *b*, açúcares totais, proteínas e aminoácidos. Não houve diferença entre os diferentes tempos de extração no rendimento de óleo essencial. O aumento do tempo de extração ocasionou o aumento na porcentagem relativa do beta-patchouleno, cariofileno, gama-patchouleno, alfa-patchouleno, beta-guaieno e alfa-selineno. Enquanto o pogostol apresentou uma redução com o aumento do tempo de extração. A aplicação de 30 Kg.ha⁻¹ de nitrogênio no plantio proporciona maior desenvolvimento vegetativo e rendimento de óleo essencial do patchouli. Na adubação de manutenção da cultura recomenda-se a aplicação de 99 Kg.ha⁻¹ de nitrogênio para obter máxima produtividade de óleo essencial. A composição do óleo essencial, aparentemente, não sofreu influência dos diferentes níveis de nitrogênio aplicados em ambas as épocas (plantio e manutenção). Em casa-de-vegetação, o maior fornecimento de nitrogênio não implica em um aumento na produção de óleo essencial. O maior desenvolvimento e rendimento de óleo essencial de patchouli são obtidos sem aplicação de nitrogênio. Com o aumento nos níveis de nitrogênio ocorre redução nos teores de aminoácidos e açúcares totais e aumento nos teores de proteínas e clorofila *a*. Não foi observado influência da adubação nitrogenada na composição química do óleo essencial de patchouli.

Palavras-chave: *Pogostemon cablin*, nutrição mineral, metabolismo.

ABSTRACT

Patchouli (*Pogostemon cablin* Beth.) is an aromatical plant whose main commercial importance is the essential oil from leaves because of its main constituent patchoulol, which presents large use in the perfum industry. The present work had as main objective to evaluate factors that can influence the vegetative development and the yield and composition of the essential oil. Initially, it was investigated the effect of periods of hydrodistillation on essential oil yield and composition. The experimental design was completely randomized, and the treatments compared 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7 and 8 hours of hydrodistillation, with three repetitions. Two other experiments were carried out at field and greenhouse conditions, evaluating the effect of different nitrogen levels on patchouli metabolism and development, as well as in essential oil yield and composition. The experiment at field conditions was carried out in Joinville-SC. The experimental design was in completely randomized blocks with units subdivided and five repetitions, each one with 25 plants. The different levels of nitrogen fertilization (30, 60, 90 and 120 Kg.ha⁻¹) at planting and the maintenance of the culture was evaluated by comparing dry mass accumulation of leaves and branches, number and length of branches, leaf area and essential oil yield and production. The experiment at greenhouse conditions was carried out in experimental design of completely randomized, comparing the effect of nitrogen fertilization (0, 30, 60, 90 and 120 Kg.ha⁻¹) with 5 repetitions, each one with 6 plants. Besides the development analysis (dry mass, number and length of branches, dry mass and leaf number e leave area) and essential oil yield evaluation, biochemical characteristics (f chlorophylls, *a*, *b* and total, total sugars, proteins and amino acids) were compared. No difference among extraction times in the essential oil yield was observed, however, the increase of the extraction time resulted on increase of the relative percentage of the beta-patchoulene, cariofilene, gamma-patchoulene, alpha-patchoulene, beta-guaiene and alpha-selinene and decrease of pogostol. The use of 30 Kg.ha⁻¹ of nitrogen at planting provided greater vegetative development and essential oil yield of patchouli. A dose of 99 Kg.ha⁻¹ of nitrogen applied at maintenance resulted on great essential oil productivity. The composition of the essential oil was not affected by nitrogen levels at planting and maintenance. At greenhouse, the great nitrogen supply does not result on increase of essential oil production. Great vegetative development and essential oil yield was observed in the treatment without nitrogen application. With the increase of nitrogen levels, a reduction on amino acid and sugars levels and increase of protein and chlorophyll *a* concentration was observed. No effect of nitrogen fertilization in the chemical composition of the patchouli essential oil was observed.

Keywords: *Pogostemon cablin.*, mineral nutrition, metabolism.

LISTA DE FIGURAS

FIGURA 1 - Destilador tipo Clevenger do Laboratório de Ecofisiologia/UFPR. Curitiba-PR, 2006.....	34
FIGURA 2 - Distribuição dos destiladores durante o experimento. Laboratório de Ecofisiologia/UFPR. Curitiba-PR, 2006.	34
FIGURA 3 - Rendimento do óleo essencial de patchouli em função dos diferentes tempos de extração. Curitiba-PR, 2006.....	36
FIGURA 4 – a) Aplicação do calcário, b) área experimental de patchouli em agosto de 2006. Joinville-SC, 2006.....	47
FIGURA 5 - Área experimental de patchouli após adubação de plantio (a) e adubação de manutenção (b). Joinville-SC, 2007.....	48
FIGURA 6 - Massa seca foliar de patchouli em função da interação das épocas de adubação (plantio e manutenção) e dos diferentes níveis de adubação nitrogenada. Joinville-SC, 2007.....	50
FIGURA 7 - Área foliar de patchouli após a aplicação de diferentes níveis de adubação nitrogenada em manutenção. Joinville-SC, 2007.....	52
FIGURA 8 – Produtividade ($L \cdot ha^{-1}$) de óleo essencial em diferentes níveis de adubação nitrogenada aplicados na adubação de plantio e manutenção do patchouli. Joinville-SC, 2007.	53
FIGURA 9 - Massa seca de ramos de patchouli submetido a diferentes níveis de adubação nitrogenada. Curitiba-PR, 2007.	67
FIGURA 10 - Comprimento de ramos de patchouli submetido a diferentes níveis de adubação nitrogenada. Curitiba-PR, 2007.....	67
FIGURA 11 - Massa seca foliar de patchouli submetido a diferentes níveis de adubação nitrogenada. Curitiba-PR, 2007	68
FIGURA 12 - Área foliar de patchouli submetido a diferentes níveis de adubação nitrogenada. Curitiba-PR, 2007.....	69

FIGURA 13 - Teores de aminoácidos e proteínas em folhas de patchouli submetido a diferentes níveis de adubação nitrogenada. Curitiba-PR, 2007.	71
FIGURA 14 - Teores de açúcares totais em folhas de patchouli submetido a diferentes níveis de adubação nitrogenada. Curitiba-PR, 2007.....	72
FIGURA 15 - Teores de clorofila <i>a</i> de patchouli submetido a diferentes níveis de adubação nitrogenada. Curitiba-PR, 2007.	73
FIGURA 16 - Rendimento de óleo essencial de patchouli submetido a diferentes níveis de adubação nitrogenada. Curitiba-PR, 2007.	74
FIGURA 17 - Produtividade de óleo essencial de patchouli submetido a diferentes níveis de adubação nitrogenada. Curitiba-PR, 2007.	74

LISTA DE TABELAS

TABELA 1 - Médias dos constituintes do óleo essencial de patchouli (<i>Pogostemon cablin</i>) em função dos diferentes tempos de extração. Curitiba-PR, 2006.	38
TABELA 2 - Massa seca (MS), número e comprimento de ramos e área foliar de patchouli após adubação nitrogenada de plantio e manutenção. Joinville-SC, 2007.....	50
TABELA 3 - Rendimento ($\mu\text{L}\cdot\text{g}^{-1}$ MS) de óleo essencial de patchouli após adubação nitrogenada de plantio e manutenção. Joinville-SC, 2007.....	52
TABELA 4 – Porcentagem relativa dos constituintes do óleo essencial de patchouli nos diferentes níveis de nitrogênio aplicados após adubação de plantio. Joinville-SC, 2007.....	54
TABELA 5 – Porcentagem relativa dos constituintes do óleo essencial de patchouli nos diferentes níveis de nitrogênio aplicados na adubação de manutenção. Joinville-SC, 2007.....	55
TABELA 6 - Dados de radiação, temperatura e umidade relativa do ar coletados, em um dia de pleno Sol, na casa-de-vegetação do Departamento de Fitotecnia da UFPR. Curitiba-PR, 2007.....	69
TABELA 7 - Médias climáticas do município de Curitiba no período de julho a setembro de 2007. Curitiba-PR, 2007.	70
TABELA 8 – Porcentagem relativa dos constituintes do óleo essencial de plantas de patchouli submetidas a diferentes níveis de adubação nitrogenada. Curitiba-PR, 2007.....	75

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO	10
2	REVISÃO DE LITERATURA	12
2.1	PATCHOULI	12
2.2	ÓLEOS ESSENCIAIS	13
2.2.1	<i>Fatores que afetam a produção de óleos essenciais</i>	16
2.2.2	<i>Nitrogênio e produção dos óleos essenciais</i>	18
2.2.3	<i>Tempo e métodos de extração</i>	21
2.3	MERCADO DOS ÓLEOS ESSENCIAIS	22
2.4	REFERÊNCIAS	25
3	RENDIMENTO E COMPOSIÇÃO DO ÓLEO ESSENCIAL DE PATCHOULI CONFORME O TEMPO DE EXTRAÇÃO	30
3.1	INTRODUÇÃO	32
3.2	MATERIAIS E MÉTODOS	33
3.3	RESULTADOS E DISCUSSÃO	36
3.4	CONCLUSÕES	39
3.5	REFERÊNCIAS	41
4	DESENVOLVIMENTO VEGETATIVO, RENDIMENTO E COMPOSIÇÃO DO ÓLEO ESSENCIAL DO PATCHOULI SUBMETIDO A DIFERENTES NÍVEIS DE ADUBAÇÃO NITROGENADA NO PLANTIO E MANUTENÇÃO	43
4.1	INTRODUÇÃO	45
4.2	MATERIAIS E MÉTODOS	46
4.3	RESULTADOS E DISCUSSÃO	49
4.4	CONCLUSÕES	56
4.5	REFERÊNCIAS	57
5	METABOLISMO DO PATCHOULI CULTIVADO EM CASA-DE-VEGETAÇÃO E SUBMETIDO A DIFERENTES NÍVEIS DE ADUBAÇÃO NITROGENADA	59
5.1	INTRODUÇÃO	61
5.2	MATERIAIS E MÉTODOS	62
5.2.1	<i>Rendimento, produção e composição do óleo essencial</i>	63
5.2.2	<i>Análises bioquímicas</i>	64
5.3	RESULTADOS E DISCUSSÃO	66
5.3.1	<i>Desenvolvimento vegetal</i>	66
5.3.2	<i>Resultados das análises bioquímicas</i>	70
5.3.3	<i>Rendimento e produção de óleo essencial</i>	73
5.4	CONCLUSÕES	75
5.5	REFERÊNCIAS	77
6	CONSIDERAÇÕES FINAIS	79
	ANEXOS	81

1 INTRODUÇÃO

As plantas possuem substâncias voláteis comumente denominadas óleos essenciais que estão presentes em diferentes partes da planta, como raízes, folhas, casca, flores ou frutos. O aroma característico é proveniente de uma variedade complexa de compostos químicos (JOY et al., 2001).

A composição e o rendimento do óleo essencial podem variar, não somente de uma espécie para outra, como também devido à influência de fatores ambientais durante o desenvolvimento vegetativo, condições de cultivo, colheita e condições em pós-colheita.

As aplicações dos óleos essenciais vão desde a indústria alimentícia, de cosmético e higiene, ao uso como medicamentos, na fitoterapia ou aromaterapia (MARTINS, 2000; JOY et al., 2001). O maior problema no desenvolvimento destas indústrias é a grande concorrência dos similares sintéticos. Os óleos essenciais sintéticos podem ser imitações dos naturais ou composições fantasia e costumam ser denominados de “essências”. Outros problemas freqüentes relacionados à composição dos óleos essenciais incluem a variabilidade de sua composição, a adulteração ou falsificação, ou ainda, a identificação incorreta do produto de origem. Devido às crescentes exigências do mercado por produtos naturais em detrimento dos sintéticos, houve uma valorização dos óleos essenciais no mercado (MARTINS, 2000). Das 1500 espécies aromáticas conhecidas, apenas entre 300-500 foram estudadas, e destas apenas aproximadamente 50 são comercialmente utilizadas em larga escala (JOY et al., 2001).

O patchouli é uma planta cujo óleo essencial tem-se mostrado de grande importância econômica devido à sua aplicação na indústria de perfumaria. Um dos maiores produtores, a Índia, atende principalmente o seu mercado interno, que consome 50 toneladas do óleo puro e 100 toneladas do óleo formulado (SINGH et al., 2002).

Sendo uma cultura relativamente nova no país, são poucos os estudos relacionados ao manejo do patchouli no Brasil. Numa época em que as exigências

de segurança, eficácia e qualidade estabelecidas pelas agências regulamentadoras se tornaram mais rígidas, a permanência ou entrada no mercado desses produtos está relacionada com o desenvolvimento de estudos científicos. O objetivo é a obtenção de matérias-primas controladas e o desenvolvimento de tecnologias apropriadas para a obtenção de óleos essenciais de qualidade.

Com isso observa-se a importância em avaliar fatores que podem afetar o desenvolvimento vegetal, a produção e composição de óleo essencial desta espécie no Brasil. Para tal, experimentos foram conduzidos com o objetivo de avaliar o efeito do tempo de hidrodestilação e a influência de diferentes níveis de adubação nitrogenada no patchouli.

2 REVISÃO DE LITERATURA

2.1 PATCHOULI

O patchouli, *Pogostemon cablin* Benth, sinônimo de *Pogostemon patchouli* Pellet. var. *suavis*, pertencente à família Lamiaceae, é uma planta aromática, cujo óleo essencial é considerado um dos melhores fixadores usados na indústria de perfumes. É uma planta ereta, ramificada, que chega a atingir de 0,5 a 1,0 m de altura. Apresenta folhas de ovais a alongadas, com aproximadamente 10x10 cm, serradas, com tricomas abaxiais, pecíolo com 8 cm e ramos com nós. A inflorescência é terminal ou axilar, densa, com 2,4 a 14 cm de comprimento, e apresenta flores pequenas e irregulares, bissexuais, de brancas a roxas (JOY et al., 2001).

Cultivada na Índia, China, Indonésia, Malásia e América do Sul, desenvolve-se melhor em ambientes sombreados, em temperaturas entre 24°C e 28°C, precipitação pluviométrica de 2.000 a 3.000 mm anuais e altitude de 0 a 1.200 m, sendo preferível entre 10 e 400 m, com umidade relativa do ar de 75%. Foram citados plantios em consórcio com a teca (*Tectona grandis*), seringueira (*Hevea brasilienses*) e palmeiras produtoras de frutos e óleos. Prefere solos bem drenados, ricos em nutrientes e matéria orgânica, pH entre 5,5 e 6,2 (JOY et al., 2001; EPAGRI, 2004).

Pode ser propagado vegetativamente por estacas apicais de 15 a 20 cm, com 4 a 5 nós mantendo-se até 3 pares de folhas cortadas pela metade. O enraizamento ocorre de 4 a 5 semanas e as plantas podem ser transplantadas a partir da 8ª semana. A EPAGRI (2004) recomenda de 20 a 40 t.ha⁻¹ de adubo orgânico na implantação da cultura e adubação química durante o restante do cultivo. JOY et al. (2001) recomendam o uso de 12 a 15 t.ha⁻¹ de adubo orgânico no plantio e NPK nas quantidades de 25:50:50 Kg.ha⁻¹, com adubação complementar após dois meses de 25 Kg.ha⁻¹ de nitrogênio. Recomendam, ainda, a aplicação de

50 Kg.ha⁻¹ de nitrogênio após a colheita, em duas doses, totalizando 150 Kg.ha⁻¹ de nitrogênio por ano.

A primeira colheita pode ser feita de seis a oito meses após o plantio e os demais em intervalos de três a quatro meses, sendo necessário o replantio após três a quatro anos. Recomenda-se que a colheita seja nas horas de temperaturas mais amenas, a uma altura de 25 cm, dos ramos que apresentem no mínimo três pares de folhas maduras. Depois de colhido deverá sofrer uma pré-secagem à sombra, em local com circulação de ar e sendo revolvimento para que ocorra uma secagem uniforme, sem fermentação (JOY et al., 2001; EPAGRI, 2004).

2.2 ÓLEOS ESSENCIAIS

Nas plantas podem ser encontradas substâncias de dois tipos: provenientes do metabolismo primário e do metabolismo secundário. O metabolismo secundário ocorre por rotas específicas de cada organismo, estando extremamente ligado com o metabolismo primário, que fornece as moléculas precursoras. Os metabólitos secundários podem ser derivados de quatro rotas precursoras: do ácido chiquímico (precursor de compostos aromáticos, como a fenilalanina, tirosina, o triptofano, e os fenilpropanóides); do mevalonato (isoprenos ou terpenos); do acetato (ácidos graxos e alguns compostos fenólicos); e dos aminoácidos (biossíntese de compostos nitrogenados, como alcalóides, glucosinálidos, glicosídeos). Havendo compostos de origem mista, ou seja, provenientes de mais de uma rotas (CASTRO et al., 2004a).

Os constituintes dos óleos essenciais das plantas se encaixam dentro de duas classes: terpenóides e fenilpropanóides. Contudo, os terpenos representam a maioria dos componentes, ocorrendo com maior frequência e abundância (SANGWAN et al., 2001).

Terpenóides são sintetizados a partir de unidades de cinco carbonos ativadas, isopentenilpirofosfato (IPP) e dimetilalilpirofosfato (DMAPP). A biossíntese do IPP ocorre a partir da rota do acetato via intermediário mevalonato, catalisado por

um grupo de enzimas chamadas prenilttransferases. Ocorre em cooperação com as membranas em três compartimentos celulares: o citosol, a matriz mitocondrial e o estroma dos plastídeos. O retículo endoplasmático é o sistema de membranas que participa da biossíntese dos terpenos em cooperação com o citosol (SANGWAN et al., 2001; CASTRO et al., 2004a).

Os fenilpropanóides são originados da rota do ácido chiquímico. Por esta rota passam 20% do carbono fixado pelas plantas. Partes destes compostos são incorporados nas ligninas, atuando no controle dos estresses físico e químico, através da indução de resistência à parede celular da planta. São sintetizados nos plastídeos e no citosol, através de dois precursores: o fosfoenolpiruvato (PEP) e a eritrose-4-fosfato (CASTRO et al., 2004a).

O óleo essencial de patchouli é constituído principalmente de terpenos derivados da rota do mevalonato. Os compostos derivados desta rota, também denominados isoprenos, são classificados de acordo com o número de unidade de isopreno (u.i.): monoterpenos (C_{10} , duas u.i.), sesquiterpenos (C_{15} , três u.i.), diterpenos (C_{20} , quatro u.i.), sesterpenos (C_{25} , cinco u.i.), triterpenos (C_{30} , seis u.i.) e tetraterpenos (C_{40} , oito u.i.). Os monoterpenos e sesquiterpenos são os principais constituintes dos óleos essenciais (CASTRO et al., 2004a; SIMÕES e SPITZER, 2003). Dentre eles, os sesquiterpenos são os mais encontrados em patchouli, sendo em geral menos voláteis, porém, podem influenciar sensivelmente o odor nos óleos onde ocorrem (SANGWAN et al., 2001; CASTRO et al., 2004a).

Segundo DEGUERRY et al. (2006) a síntese do óleo essencial de patchouli ocorre a partir do farnesil-difosfato que sofre alterações estruturais dando origem a 2 intermediários humulil cátion e E,E – germacradienil cátion, este último é o responsável pela síntese do pogostol e do patchoulol, compostos majoritários no óleo essencial desta espécie. Sendo o sesquiterpeno patchoulol o responsável pela nota do óleo essencial.

De acordo com SILVA et al. (2004), os cinco constituintes mais abundantes no óleo essencial do patchouli são: patchoulol (32,88% - 70,74%), alfa-bulneseno (5,12% - 6,84%), alfa-guaieno (2,87% - 4,25%), gama-patchouleno (2,66% - 3,52%) e outros sesquiterpenos (5,16% - 6,56%) não identificados. BURÈ e SELLIER (2004)

isolaram 41 compostos no óleo essencial de patchouli (*P. cablin* Beth.), sendo que destes 28 (92,9% do total do óleo) já haviam sido identificados e quatro compostos, gama-gurjuneno (2,2%), germacreno D (0,2%), acifileno (3,4%) e 7-epi-alfa-selineno (0,2%) foram detectados pela primeira vez.

A ISO (International Standard Organization) é uma organização regulamentadora, que entre vários outros, regulamenta a qualidade dos óleos essenciais de várias espécies comerciais, pela da determinação de densidade, odor, coloração e composição química dos mesmos, etc. Comercialmente, para que o óleo essencial do patchouli seja considerado de qualidade deve atender as características descritas pela ISO (3757:2002): beta-patchouleno (1,8% - 3,5%); copaeno (traços - 1%); alfa-guaieno (11% - 16%); beta-cariofileno (2% - 5%); bulneseno (13% - 21%); nor-patchoulenol (0,35% - 1%); patchoulol (27% - 35%); gama-patchouleno (1,8% - 3,5%); pogostol (1% - 2,5%).

O óleo essencial extraído das folhas do patchouli é um dos mais importantes devido sua fragrância amadeirada e sua capacidade de fixação à pele (SUGIMURA et al., 2005), sendo amplamente utilizado pelas indústrias de cosméticos, higiene oral e de perfumarias (SINGH et al., 2002; ZHAO et al., 2005). Apresentando, ainda, atividades farmacológicas (HU et al., 2005).

O rendimento percentual do óleo essencial de patchouli pode variar entre 2,5% a 3,5% em material seco. De acordo com a EPAGRI (2004) um cultivo de patchouli pode chegar a produzir 10 t.ha⁻¹ de massa fresca total por corte, com rendimento de óleo essencial de 8 Kg.t⁻¹, com valor médio de US\$ 23,00. De acordo com JOY et al. (2001) em um hectare de plantio pode-se obter 8 t de massa fresca, que depois de seca passa a pesar 1,6 t, o que renderia 40 Kg de óleo essencial.

Os óleos essenciais são sintetizados, armazenados e liberados ao ambiente por estruturas da epiderme ou mesofilo, tais células ou reservatórios de óleo e glândulas secretoras ou tricomas, que são morfologicamente características de plantas aromáticas (BARRACA, 1999; SANGWAN et al., 2001).

Nas espécies da família Lamiaceae são geralmente produzidos e armazenados em estruturas conhecidas como tricomas glandulares peltados, que estão distribuídos preferencialmente na face abaxial das folhas, podendo ocorrer

também na adaxial com menor densidade (SANGWAN et al., 2001; TURNER et al., 2000). Porém, no patchouli, mais de 70% desses óleos essenciais estão armazenados em células internas especializadas (SANGWAN et al., 2001). A origem e desenvolvimento destas células é uma característica ontogênica das folhas.

2.2.1 Fatores que afetam a produção de óleos essenciais

A produção de metabólitos secundários, conseqüentemente dos óleos essenciais, está diretamente ligada com as relações ecológicas da planta produtora. A concentração dos compostos químicos na planta depende de suas características genéticas e dos estímulos que irá receber do ambiente.

Entre os fatores que influenciam a síntese de óleos essenciais estão os genéticos e os ambientais (temperatura, luz, água, solo, altitude, latitude, etc.). Os fatores técnicos (colheita, espaçamento, transporte, secagem, armazenamento, etc) influenciam o rendimento do óleo essencial.

Os fatores genéticos são responsáveis por regular e manter características próprias da planta, em relação a diversos aspectos, entre eles a síntese de metabólitos (CASTRO et al., 2004a; MATOS, 2007; SANGWAN et al., 2001). CASTRO et al. (2004b), ao estudarem cinco acessos de mentrasto (*Ageratum conyzoides*) coletados no estado de Minas Gerais, constataram a variação no teor (de 0,40% a 0,70%) e composição (Precoceno I – de 10,46% a 76,57%; Precoceno II – de 0,41% a 76,71%) do óleo essencial nos diferentes acessos.

A adaptação às mais diversas condições ambientais apresenta desafios evolutivos incomuns, e as plantas que ocorrem ao longo de um gradiente ambiental variam também quanto à sua constituição genética e atividade fisiológica, condicionadas pelo processo de seleção natural. Embora pertencendo à mesma espécie, podem responder de modo muito diferente ao ambiente em que se encontram. Os fatores ambientais podem atuar tanto de forma positiva quanto negativa na produção de óleos essenciais. SILVA et al. (2006), ao correlacionarem o

rendimento de óleo essencial de onze espécies de eucalipto com as variações climáticas existentes ao longo do ano, observaram que a disponibilidade de água no solo e a temperatura do ar influenciaram o rendimento de óleo essencial. Sob condições de deficiência hídrica, observada na primavera, ocorreu o menor rendimento de óleo. No verão, quando a temperatura foi mais elevada e não ocorreu deficiência hídrica, registrou-se o maior rendimento de óleo. Porém, apesar das diferenças no rendimento, não observaram influência das condições climáticas sobre o teor do componente químico principal (cineol) do óleo essencial.

A radiação pode afetar tanto pela intensidade quanto pela qualidade. SOUZA et al. (2007) avaliaram o efeito da qualidade espectral da luz na biomassa seca e no teor de óleo essencial de manjeriço (*Ocimum basilicum*). Para tal, fizeram o plantio da espécie a pleno sol e sob coberturas com a malha preta e as malhas fotoconversoras azul e vermelha, observando que o maior teor percentual de óleo essencial foi obtido nas plantas instaladas sob a malha preta, 26,4% a mais em relação ao tratamento a pleno sol. PUTTANA et al. (2005) cultivaram o patchouli sob diferentes níveis de sombreamento (0, 50 e 75%) e constataram que esta espécie apresentou maior crescimento e área foliar quando cultivada com 50 e 75% de sombreamento. Também foi confirmado que esta espécie tem um bom desenvolvimento em cultivo consorciado como foi relatado por MUNI-RAM et al. (1999) ao cultivarem o patchouli consorciado com mamão, havendo um acréscimo na produção de óleo essencial em 76% e na qualidade do óleo (presença de patchoulol de 8% -11%) comparado a monocultura de patchouli.

O manejo da cultura durante seu desenvolvimento e na pós-colheita pode afetar de diferentes formas a produção e composição dos óleos essenciais. COSTA et al. (2004), ao avaliarem a influência de diferentes épocas de colheita (primavera, verão, outono e inverno) e horários de corte (9, 12 e 15h) em citronela (*Cymbopogon winterianus*) cultivada no município de São Cristóvão-SE, observaram que as mudanças sazonais apresentaram efeito significativo sobre a produção de biomassa fresca e seca, e teor e rendimento de óleo essencial, onde rendimentos máximos de óleo essencial foram observados às 9:00 h durante o verão (2,71%), inverno (2,36%) e primavera (4,24%).

A aplicação de adubos geralmente afeta a produção de óleo pelo aumento da biomassa por unidade de área. A relação dos nutrientes com a produção do óleo essencial pode ocorrer de diferentes formas, influenciando tanto no metabolismo primário quanto no secundário, podendo ser encontrados relatos do efeito dos nutrientes nitrogênio, potássio e fósforo no rendimento e composição do óleo essencial de diferentes espécies aromáticas (CASTRO et al., 2004a).

SOUZA et al. (2001) ao estudarem o efeito do N, P e K na produção de óleo essencial em pimenta-longa (*Piper hispidinervum* C. DC.) verificaram que na interação NxP esse efeito foi significativos. As doses de N, na ausência de adubação com P, promoveram aumento linear na produção de óleo essencial, enquanto na ausência de N, as doses de P apresentaram efeito quadrático, atingindo máxima produtividade (196 L.ha^{-1}) de óleo essencial. Os mesmos autores verificaram que em solo sem aplicação de calcário, as doses de N promoveram efeito quadrático sobre a produção de óleo essencial.

2.2.2 Nitrogênio e produção dos óleos essenciais

Principal macronutriente, o nitrogênio é componente mineral em maior presença e um dos mais exigido pelas plantas, depois do oxigênio, do carbono e do hidrogênio. O teor de nitrogênio nas plantas (em matéria seca) varia de 1% a 5% (FAQUIN, 1994). Ele se apresenta sob duas formas minerais: amoniacal e nítrica. Esta última forma tende a predominar nos solos com boa estrutura física e de vida microbiana intensa. A amônia é diretamente assimilada pela planta, enquanto os nitratos deverão passar por uma redução. A maioria das transformações sofridas pelo nitrogênio na biosfera (o ciclo do nitrogênio) é de origem microbiana. A importância agrônômica destas transformações é enorme, pois estas regulam o balanço do nitrogênio no solo e sua disponibilidade para as plantas sob as formas minerais, as únicas assimiláveis (ROMEIRO, 1994).

A atmosfera, com aproximadamente 79% de nitrogênio é a fonte natural do elemento, sendo obtido pela fixação de nitrogênio atmosférico por microorganismos.

Pode-se ainda encontrar este elemento no estoque de matéria orgânica dos solos, que contém cerca de 1/20 de sua massa em nitrogênio (ROMEIRO, 1994).

A passagem do nitrogênio orgânico para a forma mineral processa-se em duas etapas distintas: a amonificação, que libera amônia (NH_4^+) e, em seguida, a nitrificação, que oxida a amônia transformando-a em nitratos (NO_3^-). A maior absorção de uma forma em relação à outra é influenciada por certos fatores, como o nível de oxigenação, o grau de umidade e o pH do solo, a forma do fertilizante nitrogenado empregado e o tipo de vegetação. Uma fertilização química desequilibrada perturba muito este processo. Por exemplo, o excesso de amônia pode bloquear todo o processo de nitrificação ou uma das suas fases, fazendo com que se acumulem nitritos tóxicos; o excesso de potássio pode favorecer o fenômeno de retrodegradação da amônia que retarda ou inibe a nitrificação. O pH ácido inibe a absorção de NH_4^+ e favorece do NO_3^- . Outra forma de absorção é pela fixação biológica do nitrogênio, que consiste na conversão de N_2 atmosférico para formas combinadas pela ação de microorganismos e é o principal processo de adição do N_2 ao solo (FAQUIN, 1994; ROMEIRO, 1994).

O nitrogênio absorvido pelas raízes é transportado via xilema até a parte aérea, sendo distribuído pela planta. Quase todo NH_4^+ é assimilado nos tecidos das raízes e transportado como aminoácido. O N-NO_3^- pode ser transportado nesta mesma forma. Já o N_2 fixado pelas plantas é transportado na forma de compostos como a glutamina, uréidos e asparagina. O nitrogênio pode, por meio do floema, ser redistribuído na forma de aminoácidos quando houver deficiência do mesmo (FAQUIN, 1994).

O nível de nitrogênio mineral no solo tende a se modificar ao longo do ano. Foi verificado que em solos com boa estrutura física (portanto, bem drenados e oxigenados), nível de acidez e teor de matéria orgânica normais, a tendência é que ocorra maior mineralização. É preciso considerar também a relação carbono/nitrogênio da matéria orgânica. Quanto maior a proporção C/N, maior será a mineralização e vice-versa, desde que as frações carbonadas e nitrogenadas sejam suscetíveis de serem mineralizadas mais ou menos na mesma velocidade. Por ser um ânion, isto é, um íon que não é retido pelo poder fixador do solo, recomenda-se o

aporte fracionado de nitrogênio comercial para evitar o desperdício e diminuir os problemas ambientais. A manutenção de um teor adequado de matéria orgânica no solo é importante não apenas como fonte de nitrogênio para a planta, reduzindo a necessidade de aportes exógenos, mas também como base da atividade biológica do solo capaz de capturar o excesso de nitrogênio (ROMEIRO, 1994).

Na planta, o nitrogênio apresenta-se em maior proporção (90%), na forma orgânica, na qual irá exercer suas funções como componente estrutural de macromoléculas e constituinte de enzimas. Os aminoácidos livres darão origem a outros aminoácidos e proteínas, e conseqüentemente às enzimas e coenzimas sendo também precursores de hormônios vegetais, citocromos e clorofilas, reserva de nitrogênio na semente (aspargina e arginina), bases nitrogenadas, nucleotídeos, nucleosídeos, NAD e NADP (FAQUIN, 1994).

O nitrogênio, assim como outros nutrientes, pode influenciar a produção de óleo essencial, tanto de forma direta como indireta. Indiretamente, ele pode influenciar pelo aumento da biomassa por unidade de área podendo assim, haver uma produtividade maior. Diretamente influencia o metabolismo primário e secundário, afetando assim, não somente o rendimento de óleo, como também a composição. RAO et al. (1998) observaram que a maioria das plantas aromática são sensíveis à deficiência de nitrogênio e que a aplicação deste, de forma adequada, aumenta a produção de óleo essencial.

MAPELI et al. (2005) ao avaliarem a produção de biomassa e o teor de óleo essencial dos capítulos florais da camomila cv. Mandirituba, em função de doses de nitrogênio e fósforo constataram que a adubação com N e P não influenciou a produção de óleo essencial, nem nos teores de N e P dos capítulos florais da camomila.

Resposta diferente foi encontrada pelos autores OLIVEIRA et al. (2005), que ao avaliarem o teor de óleo essencial em folhas de erva-doce (*Foeniculum vulgare*) adubada com esterco bovino (0; 7,5; 15; 22,5; e 30 t.ha⁻¹) e NPK, nas quantidades de 100 Kg.ha⁻¹ de superfosfato simples, 88 Kg.ha⁻¹ de cloreto de potássio e 100 Kg.ha⁻¹ de sulfato de amônio (parcelado 50% aos 30 e 50% aos 60 dias após o transplante), observaram que a adubação orgânica elevou a concentração de óleo essencial nas

plantas. Ajustadas ao modelo linear de regressão, as médias no teor de óleo essencial aumentaram de 0,0115 e 0,016 mL.Kg⁻¹ de massa verde, a cada tonelada de esterco bovino adicionado no solo, na presença e ausência de NPK (respectivamente), com teor máximo de óleo essencial de 1,40 mL. Kg⁻¹ de massa verde, na dose mais elevada de esterco bovino. SINGH (1999) avaliou diferentes doses de nitrogênio (0, 25, 50, 75 Kg.ha⁻¹), aplicado no plantio, na produção de óleo essencial de patchouli [*P. patchouli* (*P. cablin*)] cultivado na Índia, observando maior produção do óleo essencial (51,88 Kg.ha⁻¹) com a aplicação de 50 Kg.ha⁻¹ de nitrogênio.

PUTTANA et al. (2005) estudaram o efeito de diferentes níveis de nitrogênio (0, 100, 200 Kg.ha⁻¹ por ano) no rendimento de óleo essencial de patchouli (*P. cablin*), observando o aumento na produção com níveis crescentes de nitrogênio aplicado, demonstrando a importância deste macronutriente tanto para o desenvolvimento como para a produção de óleo essencial. Fato confirmado por SINGH et al. (2002) que avaliaram os mesmos níveis de nitrogênio, em dois anos de cultivo de patchouli.

2.2.3 Tempo e métodos de extração

De acordo com as características da planta, dos óleos essenciais e das estruturas onde se encontram armazenados, o método de extração desses poderá ser por hidrodestilação, destilação por arraste a vapor e extração por solventes, CO₂ supercrítico, entre outros (CARVALHO FILHO, 2004).

GUENTHER (1972) relata que a escolha do método de extração do patchouli deve considerar o material que será utilizado: somente folhas ou folhas e ramos. No caso do uso de folhas aconselha o método de extração por arraste a vapor, método sugerido também por JOY et al. (2001). A permuta entre baixa e alta pressão (1,4 a 3,5 Kg.cm⁻²) é sugerida por ambos os trabalhos, por proporcionar maior produção de óleo devida a maior ruptura das células. GUENTHER (1972) coloca ainda que a

baixa pressão, o tempo de destilação deverá ser maior e que a alta pressão pode ocasionar aumento na produtividade, porém poderá haver variação na qualidade do óleo.

A hidrodestilação é o método mais utilizado, dentro deste método o aparelho tipo Clevenger, é o principal aparelho usado em laboratórios, devido ao fácil manejo e baixo custo. Neste método o material vegetal é imerso em água sob aquecimento até a ebulição, resultando na formação de vapores que arrastam os compostos voláteis, os quais, após condensação, separam-se da fase aquosa por decantação. A composição dos óleos essenciais pode ser influenciada, no processo, pelo contato com a água, tempo de extração e velocidade de aquecimento (PRINS et al., 2006).

Mesmo com a escolha adequada do método de extração, fatores como a espécie, local e estrutura especializada onde se encontra o óleo essencial poderão influenciar a extração, principalmente no que diz respeito ao tempo de extração e ao tipo de tratamento pós-colheita. De acordo com GUENTHER (1972) a extração do óleo essencial de patchouli é influenciada pelo tratamento pós-colheita, sendo necessária a secagem, que proporciona aumento considerável na produção de óleo essencial. Isto se deve, segundo o mesmo autor, pela maior concentração de óleos nas células, cujas membranas se tornam mais permeáveis com a secagem.

O tempo de destilação recomendado por JOY et al., (2001) para o patchouli é de 6 a 8 horas. Recomendam, ainda, o prolongamento da destilação, que pode trazer maiores rendimentos e qualidade do óleo essencial. Esse sistema conhecido como “*stop-and-go*”, consiste em um pré-aquecimento, seguido de um descanso, para somente depois ser feita a extração (GUENTHER, 1972).

2.3 MERCADO DOS ÓLEOS ESSENCIAIS

Até o momento somente 119 espécies de plantas medicinais, aromáticas e condimentares utilizadas e comercializadas foram identificadas e reportadas pelo IBAMA (Instituto Brasileiro do Meio Ambiente), das quais 88 são citadas como

nativas. Em geral, a qualidade das informações oficiais relacionadas com o comércio das espécies é insuficiente para determinar a dimensão real desta atividade e seu impacto sobre os recursos utilizados. Informações como a localidade de coleta, destino e preço da planta comercializada têm sido omitidas e/ou não requeridas durante a obtenção de dados oficiais (SILVA et al., 2001).

A coleta, transporte, comercialização e industrialização de plantas medicinais, aromáticas ou tóxicas nativas, com fins comerciais, são regulamentadas pela Portaria nº. 122, de 19 de março de 1985 (Arts.43 a 51), ainda em vigência, do extinto Instituto Brasileiro de Desenvolvimento Florestal - IBDF. As pessoas físicas e jurídicas que se dedicam às atividades de extração, produção (com fins comerciais), transporte e comercialização de plantas medicinais devem ser registradas no Cadastro Técnico Federal de Atividades Potencialmente Poluidoras ou Utilizadoras de Recursos Ambientais (Portaria n. 113/97-25.09.97) em categorias específicas.

O mercado mundial de óleos essenciais gira em torno de US\$ 1,8 bilhão, a participação do Brasil é de 0,1%, sendo 80% devido ao comércio do óleo essencial de laranja (BARATA et al., 2005). Os principais países exportadores são EUA, França, Reino Unido e Brasil. Os EUA, maior exportador, em 2004, exportou o referente a US\$ 329,193 milhões em óleos essenciais, uma média de US\$ 8,337 por tonelada, enquanto o Brasil exportou, nesta mesma época, um montante de US\$ 98,529 milhões, aproximadamente US\$ 1,340 por tonelada de óleo essencial. No país, os principais óleos essenciais exportados foram de laranja, limão, eucalipto, pau-rosa, lima e capim-limão (BARATA et al., 2005). De acordo com ERENO (2006) o Brasil exporta aproximadamente 30.000 toneladas de óleo essencial de laranja doce e 330 toneladas de eucalipto citriodora por ano. Dados de 2007 apontam um aumento na exportação de óleos essenciais no Brasil, em torno de US\$ 131 milhões, e mudança dos principais produtos, onde receberam destaque os óleos essenciais cítricos, de candeia, eucalipto e pau-rosa (MATTOSO, 2007)

Em 2004, a posição de maior importador de óleo essencial também foi dos EUA (US\$ 318 milhões), seguindo da França, Reino Unido e Japão. O Brasil encontrava-se em décimo lugar, importando em torno de US\$ 42,0 milhões, uma média de US\$ 15,235 por tonelada de óleo essencial (BARATA et al., 2005). Assim

como na exportação, houve aumento da importação brasileira em 2007 para US\$ 51 milhões, cujos principais responsáveis foram as importações dos óleos essenciais de limão siciliano e menta (MATTOSO, 2007).

Com uma taxa média de 8% a 15% de crescimento anual, AMARAL e MATOS (2006), apontam esse como um bom indicador do desempenho das principais empresas especializadas do setor de cosméticos naturais, referentes à expansão das exportações na década de noventa. Em 2004 o Brasil ocupava a sétima posição na venda de cosméticos, sendo responsável por apenas 4% do mercado mundial, totalizando R\$ 13,1 bilhões, com 14% deste valor proveniente da venda de perfumaria (BARATA et al., 2005).

No Brasil existem 1.258 empresas atuando no setor que se divide em três segmentos: higiene pessoal, perfumaria e cosmético. Destas, aproximadamente 16 de grande porte, são as responsáveis por 72,4% do faturamento total (BARATA et al., 2005). O faturamento de uma das maiores empresas nacionais de cosmético foi o mais espetacular, crescendo 600% nos últimos 8 anos. Outra grande empresa, em cinco anos, contabilizou uma expansão do faturamento de 160%, atingindo R\$ 150 milhões. Essas empresas estão incorporando a tendência internacional de uso dos óleos vegetais e essenciais (AMARAL e MATOS, 2006).

A entrada dos fabricantes internacionais de cosméticos, a perspectiva de crescimento do mercado brasileiro de higiene pessoal e a dependência das importações para completar a oferta local de matéria-prima, vêm estimulando os fornecedores desta.

De acordo com SAUER (2000), os EUA, no ano de 2000 chegou a importar 138,639 Kg de óleo essencial de patchouli, 30% a menos do que no ano de 1999. Devido a menor demanda, houve neste mesmo período uma queda no preço do Kg do óleo essencial de U\$ 22,97 em 1999 para U\$ 19,89 em 2000. Dois anos antes (1998) o preço do óleo de patchouli atingiu preço histórico de \$ 55 e \$ 60 por Kg. Fato ocasionado por más condições do tempo na Indonésia, que detinham, na época, 70% da produção. Dados mais recentes de MATTOSO (2007) ainda apontam a Indonésia como maior produtor de óleo essencial de patchouli, com 90% da produção mundial.

2.4 REFERÊNCIAS

AMARAL, W. A.; MATOS, J. **Análise sobre a viabilidade de criação de um programa de biocomércio regional - contribuição do Brasil**. Piracicaba: ESALQ. 2006. (Relatório Preliminar - Projeto Biocomércio – Biotrade).

BARATA, L. E. S.; VILHA, A. M.; CARVALHO, R. Q. Mercado de perfumaria e cosmética no Brasil. In: III SIMPÓSIO BRASILEIRO DE ÓLEOS ESSENCIAIS, 4., 2005, Campinas. **Anais III simpósio brasileiro de óleos essenciais** Campinas, 2005.

BARRACA, S. A. **Manejo e produção de plantas medicinais e aromáticas**. Piracicaba: ESALQ, 1999. (Relatório do Estágio Supervisionado - Produção Vegetal).

BURÉ, C. M.; SELLIER, N. M. Analysis of the essential oil of Indonesian patchouli (*Pogostemon cablin* Benth.) using GC/MS (EI/CI). **Journal of Essential Oil Research**, Carol Stream, v. 16, n. 1, p. 17-19, 2004.

CARVALHO FILHO, J. L. S. **Horário de colheita, temperatura e tempo de secagem no óleo essencial de manjeriço (*Ocimum basilicum* L.)**. 85 p. Monografia (Conclusão do curso de Engenharia Agrônoma) – Universidade Federal de Sergipe, São Cristóvão, 2004.

CASTRO, H. G.; FERREIRA, F. A.; SILVA, D. J. H.; MOSQUIM, P. R. **Contribuição ao estudo das plantas medicinais: metabólitos secundários**. 2. ed. Visconde do Rio Branco: Editora Suprema, 2004a.

CASTRO, H. G.; OLIVEIRA, L. O.; BARBOSA, L. C. A.; FERREIRA, F. A.; SILVA, D. J. H.; MOSQUIM, P. R.; NASCIMENTO, E. A. Teor e composição do óleo essencial de cinco acessos de mentrasto. **Química Nova**, São Paulo, v. 27, n. 1, p. 55-87, 2004b.

COSTA, A. G.; CARVALHO FILHO, J. L. S.; SANTANA FILHO, L. G. M.; OLIVEIRA, A. S.; SANTOS, M. F.; BLANK, A. F. Influência da época, do horário e

da secagem de folhas no teor e rendimento de óleo essencial de capim citronela. **Horticultura Brasileira**, Brasília, v. 22. p. 373-374. 2004.

DEGUERRY, F.; PASTORE, L.; WU, S.; CLARK, A.; CHAPPELL, J.; SCHALK, M. The diverse sesquiterpene profile of patchouli, *Pogostemon cablin*, is correlated with a limited number of sesquiterpene synthases. **Archives of Biochemistry and Biophysics**, v. 37, p. 123-136, 2006.

EMBRAPA AMAZÔNIA ORIENTAL. **Descrição de sistema e de métodos de extração de óleos essenciais e determinação de umidade de biomassa em laboratório**. Belém: Embrapa Amazônia Oriental, 2004. 6 p. (Comunicado Técnico, 99).

EPAGRI. **Normas técnicas para cultivo de capim-limão, citronela, palma-rosa e patchouli**. Florianópolis, 2004. 58 p. (Sistemas de Produção, 37).

ERENO, D.. **Perfum of basil**. 2006. Disponível em: <<http://www.revistapesquisa.fapesp.br/index.php?art=1643&bd=1&pg=1&lq=en>>. Acesso em: 01/11/07.

FAQUIN, V. **Nutrição mineral de plantas**. Lavras: ESAL/FAEPE, 1994. 226p.

GUENTHER, E. Oil of patchouly. In: GUENTHER, E. **Essential oils of the plant family Labiatae**. New York: Krieger Publishing Company, 1972. p. 552-575.

HU L.F.; LI, S.P.; CAO, H.; LIU, J.J.; GAO J.L .; YANG, F.Q.; WANG, Y.T. GC-MS Fingerprint of *Pogostemon cablin* in China. **Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis**. p. 1-7, 2005.

JOY, P. P.; THOMAS, J.; MATHEW, S.; JOSE, G.; JOSEPH, J. 2001. Aromatic plants. *Tropical Horticulture* Vol. 2. (eds. Bose, T.K., Kabir, J., Das, P. and Joy, P.P.). Naya Prokash, Calcutta, pp. 633-733.

MAPELI, N. C.; VIEIRA, M. C.; HEREDIA Z. N. A.; SIQUEIRA, J. M. Produção de biomassa e de óleo essencial dos capítulos florais da camomila em função de nitrogênio e fósforo. **Horticultura Brasileira**, Brasília, v. 23, n. 1, p. 32-37, 2005.

MARTINS, P. M. **Influência da temperatura e da velocidade do ar de secagem no teor e da composição química do óleo essencial de capim-limão (*Cymbopogon citratus* D.C. STAPF)**. 77 p. Dissertação (Mestrado em Engenharia Agrícola) – Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, 2000.

MATOS, S. H. Cultivo e produção de plantas aromáticas. In: V SIMPÓSIO BRASILEIRO DE ÓLEOS ESSENCIAIS, 5., 2007, Fortaleza. **Anais V simpósio brasileiro de óleos essenciais**. Disponível em: <<http://www.vsboe.com.br>>. Acesso em: 10/01/2008.

MATTOSO, E. O mercado interno de óleos essenciais: desafios e oportunidades. In: SIMPÓSIO BRASILEIRO DE ÓLEOS ESSENCIAIS, 5., 2007, Fortaleza. **Anais...** Disponível em: <<http://www.vsboe.com.br>>. Acesso em: 10/01/2008.

MUNI-RAM; DASHA-RAM; SINGH, S. H.; NAQVI, A. A.; SUSHIL-KUMAR. Studies on intercropping of patchouli (*Pogostemon patchouli*) with papaya (*Carica papaya*). **Journal of Medicinal and Aromatic Plant Sciences**, Lucknow, v. 21, n. 2, p. 358-360, 1999.

OLIVEIRA, A. P.; OLIVEIRA, F. J. V.; MOURA, M. F.; WANDERLEY, P. A.; LEONARDO, F. A. P.; NASCIMENTO, J. S.; SILVA, K. C.; OLIVEIRA, A. N. P. Teor de óleo essencial em erva-doce adubada com esterco bovino e NPK. **Horticultura Brasileira**, Brasília, v. 23, n. 1, p. 32-37, 2005.

PRINS, C. L.; LEMOS, C. S.; FREITAS, S. P. Efeito do tempo de extração sobre a composição e o rendimento do óleo essencial de alecrim (*Rosmarinus officinalis*). **Revista Brasileira de Plantas Mediciniais**, Botucatu, v. 8, n. 4, p. 92-95, 2006.

PUTTANA, K.; RAO, E. V. S. P.; GOPINATH, C. T.; RAMESH, S. Effect of shade and nitrogen on herb yield and longevity of patchouli (*Pogostemon cablin*). **Journal of Medicinal and Aromatic Plant Sciences**, Lucknow, v. 27, n.2, p. 297-300, 2005.

RAO, E. V. S. P.; PUTTANA, K.; SINGH, M.; RAO, R. S. G. Nutrient and water management for sustainable production of aromatic plants in red soil region of semi-arid tropics. In: WATER and Nutrient Management for Sustainable Production and Quality of Spices: proceedings of the national seminar. Karnataka, 1998. p. 80-84.

ROMEIRO, A. R. Mecanismos indutores de progresso técnico na agricultura: elementos de uma abordagem evolucionária. **Cadernos de Ciência & Tecnologia**, Brasília, v. 11, n. 1/3, p. 32-57, 1994.

SANGWAN, N. S.; FAROOQI, A. H. A.; SHABIH, F.; SANGWAN, R. S. Regulation of essential oil production in plants. **Plant Growth Regulation**, Dordrecht, v. 34, p. 3-21, 2001.

SAUER, P. Patchouli oil market expected to remain stable. **Chemical Market Reported**, v. 258, n. 16, p. 32, 2000.

SILVA, M. A. S.; EHLERT, P. A. D.; MING, L. C.; MARQUES, M. O. M. Composition and chemical variation during daytime of constituents of the essential oil of *Pogostemon patchouli* pellet leaves. **Acta Horticulturae**, The Hague, n. 629, p. 145-147, 2004.

SILVA, P. H. M. da; BRITO, J. O.; SILVA JUNIOR, F. G. da. Potential of eleven Eucalyptus species for the production of essential oils. **Scientia Agricola**, Piracicaba, v. 63, n. 1, p. 85-89, 2006.

SILVA, S. R.; BUITRÓN, X.; OLIVEIRA, L. H.; MARTINS, M. V. **Plantas medicinais do Brasil: aspectos gerais sobre legislação e comércio**. Brasília, DF: Ministério de Cooperação Econômica e Desenvolvimento da Alemanha e IBAMA. 2001.

SIMÕES, C. M. O; SPITZER, V. Óleos voláteis. In: SIMÕES, C. M. O. et al. **Farmacognosia da planta ao medicamento**. Porto Alegre: Ed. UFRGS, 2003. 1104 p.

SINGH, M.; SHARMA, S.; RAMESH, S. Herbage, oil yield and oil quality of patchouli [*Pogostemon cablin* (Blanco) Beth.] influenced by irrigation, organic mulch and nitrogen application in semi-arid tropical climate. **Industrial Crops and Products**, Amsterdam, v. 16, p. 101-107, 2002.

SINGH, M. Effect of irrigation and nitrogen levels on herbage and oil yield of patchouli (*Pogostemon patchouli*). **Journal of Medicinal and Aromatic Plant Sciences**, Lucknow, v. 21, n. 3, p. 689-691, 1999.

SOUZA R. R. de; BRASIL J. E.; MEIRELLES, A. J. A.; BERTOLUCCI, S. K. V.; PEREIRA, F. D.; BLANK, A. F. Avaliação da biomassa seca e teor de óleo essencial de manjeriço cultivado sob malha fotoconversora. **Horticultura Brasileira**, Brasília, v. 25, n. 2, 2007.

SOUZA, M. de M. M.; LÉDO, F. J. da S.; PIMENTEL, F. A. Efeito da adubação e do calcário na produção de matéria seca e de óleo essencial de pimenta-longa. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v. 36, n. 3, p. 405-409, 2001.

SUGIMURA, Y.; KADOTANI, N.; UEDA, Y.; SHIMA, K.; KITAJIMA, S.; FURUSAWA, O.; IKEGAMI, M. Transgenic patchouli plants produced by Agrobacterium-mediated Transformation. **Plant Cell, Tissue and Organ Culture**, v. 82, p.251–257, 2005.

TURNER, G. W.; GERSHENZON, J.; CROTEAU, R. Development of peltate glandular trichomes of peppermint. **Plant Physiology**, Minneapolis, v. 124, p. 675-679, 2000.

ZHAO, Z.; LU, J.; LEUNG, K.; CHAN, C. L.; JIANG, Z. H. Determination of Patchoulic Alcohol in Herba Pogostemonis by GC-MS-MS. **Chemical Pharmaceutical Bulletin**, v. 53, n.7, p. 856-860, 2005.

3 RENDIMENTO E COMPOSIÇÃO DO ÓLEO ESSENCIAL DE PATCHOULI CONFORME O TEMPO DE EXTRAÇÃO.

RESUMO

O patchouli possui óleo essencial nas folhas com utilização principal na indústria de perfumaria. O objetivo foi avaliar o melhor tempo de extração de óleo essencial de folhas secas de patchouli. Os tratamentos foram 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7 e 8 horas de extração, através do método de hidrodestilação, com aparelho graduado do tipo Clevenger e balões com capacidade de 2 L. O delineamento foi inteiramente casualizado com três repetições. O material destilado foi seco à sombra até atingir, aproximadamente 20% de umidade, utilizou-se então 50 g de massa seca foliar. Foram avaliados o rendimento, produtividade e a composição do óleo essencial. Não houve diferença entre os diferentes tempos de extração no rendimento e produção de óleo essencial, podendo a extração do óleo essencial de patchouli ser realizada com 1 hora de extração. O tempo de extração aumenta as porcentagens relativas do beta-guaieno (0,81%), beta-patchouleno (1,26%), alfa-selineno (1,37%), cariofileno (2,44%), alfa-patchouleno (3,08%) e gama-patchouleno (4,82%). O teor de pogostol (5,11%) reduz com o aumento do tempo de extração. O patchoulol, alfa-guaieno, alfa-bulneseno e seicheleno não sofrem influência do tempo de extração.

Palavras-chave: *Pogostemon cablin*, destilação, patchoulol

ABSTRACT

Patchouli accumulated essential oil in leaves with main use in perfum industry. The objective of this work was to determine the distillation time for essential oil extraction from leaves of patchouli. The treatments included 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7 and 8 hours of extraction through the hydrodistillation using a Clevenger apparatus. The experimental design was completely randomized with three replications. The leaves were dried at room temperature until reaching 20% of humidity. The essential oil yield were measured from samples containing 50 g of leaves. The composition of the obtained essential oil were then analyzed by gas cromathography. No differences among the treatments were found on essential oil yield, suggesting the essential oil extraction can be carried out during 1 hour at the experimental conditions. However, extending the extraction time, an increase in the relative percentage of the beta-patchoulene (1.26%), cariofilene (2.44%), gamma-patchoulene (4.82%), alpha-patchoulene (3.08%), beta-guaiene (0.81%) and alpha-selinene (1.37%) was observed. Pogostol (5.11%) content reduced with the increase of the extraction time. Patchoulol, alpha-guaieno, alpha-bulneseno and seicheleno contents were not changed on the evaluated extraction times.

Keywords: *Pogostemon cablin*, hydrodestillation, patchoulol

3.1 INTRODUÇÃO

Os óleos essenciais, também conhecidos como óleos voláteis ou etéreos, ou simplesmente essenciais, são definidos pela “Internacional Standard Organization” (ISO) como produtos obtidos de partes das plantas, pela destilação por arraste com vapor d’água, bem como produtos obtidos por prensagem dos pericarpos de frutos cítricos. São misturas complexas de substâncias voláteis, lipofílicas, geralmente odoríficas (SIMÕES e SPITZER, 2003).

Os óleos essenciais são produzidos, armazenados e liberados por estruturas especializadas tais como tricomas glandulares (Lamiaceae), idioblastos (Lauraceae, Piperaceae e Poaceae), canais oleíferos (Apiaceae) ou em bolsas lisígenas ou esquizolisígenas (Pinaceae e Rutaceae) (SIMÕES e SPITZER, 2003). As estruturas anatômicas nas quais os óleos essenciais são depositados evoluíram de células oleíferas, cavidades e canais secretores a tricomas glandulares (TOLEDO et al., 2004). Esta estruturas poderão ser encontradas em partes específicas (raízes, cascas, folhas, flores, frutos) ou em toda a planta (SANGWAN et al., 2001).

Para a extração de óleo essencial podem ser aplicados diversos métodos, como a hidrodestilação, maceração, extração por solvente, enfloração, gases supercríticos e microondas. Dentre esses, o de maior aplicação é o de hidrodestilação (CRAVEIRO et al., 1981). Com base nas características dos óleos essenciais é escolhido o sistema de extração. De acordo com a EMBRAPA (2004), uma das principais características físicas utilizadas na projeção de extratores é a densidade do óleo essencial em relação à água em temperaturas que variam de 5°C a 50°C. Um dos sistemas de extração mais conhecido é o tipo Clevenger, bastante utilizado em escala laboratorial, podendo operar em circuito aberto ou fechado. Destiladores comerciais variam muito de acordo com o fabricante, porém, são basicamente compostos por: caldeira, dornas, condensador, separador e coletor de óleo, com proporções métricas entre si, desde a capacidade de produção, até o volume do separador de óleo (OLIVEIRA e RAMIREZ, 2006).

A extração do óleo essencial de patchouli, de acordo com JOY et al. (2001) deve ser pelo método de destilação por arraste a vapor, relatando o fato de haver maior rendimento neste processo. As partes da plantas são, então, colocadas em um recipiente, a água aquecida evapora, atravessando as estruturas da planta, forçando a quebra das bolsas intercelulares e a liberação do óleo (FATT, 2005). No processo de hidrodestilação o material vegetal fica em contato direto com a água, que é aquecida e evapora, depois condensa, separando o óleo da água (JOY et al., 2001).

O tempo de extração irá variar de acordo com a espécie, local e estrutura especializada onde se encontra o óleo essencial. Fatores de pós-colheita, como secagem e processamento do material, também irão influenciar. EHLERT et al. (2006), avaliaram o tempo de hidrodestilação na extração do óleo essencial de sete espécies medicinais, verificando que cada uma das espécies apresentou rendimento de óleo essencial diferente em relação ao tempo de hidrodestilação, havendo uma variação entre 130 a 260 min. O tempo de destilação recomendado por JOY et al. (2001) para o patchouli é de 6 a 8 horas.

Com base nas informações, o objetivo deste trabalho foi avaliar o efeito de diferentes tempos de extração no rendimento e composição do óleo essencial de patchouli em hidrodestilação.

3.2 MATERIAIS E MÉTODOS

O trabalho foi desenvolvido no Laboratório de Ecofisiologia do Departamento de Fitotecnia e Fitossanitarismo - UFPR. O material vegetal utilizado constitui-se de folhas de *Pogostemon cablin* Benth, fornecidas pela empresa Hérbia Beneficiamento de produtos LTDA, situada no município de Joinville-SC, coletadas no mês de abril de 2006.

O delineamento experimental foi inteiramente casualizado, sendo comparados os tempos de extração de 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7 e 8 horas, após iniciar a fervura, com três repetições, sendo cada constituída de uma planta. O aparelho de

extração utilizado foi do tipo Clevenger com dedo frio, para óleos mais densos que a água, com graduação para 10 mL e manta aquecedora para balão de vidro com capacidade de 2 L (Figura 1 e 2). Ao término de cada período de extração, foram avaliados o rendimento e a composição do óleo essencial coletados.



FIGURA 1 - Destilador tipo Clevenger do Laboratório de Ecofisiologia/UFPR. Curitiba-PR, 2006.

Fonte: O autor (2006)



FIGURA 2 - Distribuição dos destiladores durante o experimento. Laboratório de Ecofisiologia/UFPR. Curitiba-PR, 2006.

Fonte: O autor (2006)

O material utilizado para extração foi desidratado à sombra até atingir, aproximadamente, 20% de umidade. O controle da secagem foi determinado pelo peso túrgido de folhas amostradas do material vegetal.

Para a destilação foram utilizadas 50 g de massa seca foliar, acrescentando 1L de água destilada. Após a extração, as amostras foram armazenadas em congelador, onde permaneceram até o momento da análise. Foram separados 20 g do material para determinação do teor de umidade no momento da extração, pela secagem em estufa com circulação de ar forçada à 65°C até obter massa constante.

As análises dos constituintes químicos do óleo essencial foram realizadas por meio de cromatografia à gás acoplada à espectrometria de massas no Departamento de Engenharia Química da UFPR. O cromatógrafo utilizado foi da marca Varian Inc. (modelo CP-3800), com detector Saturn 2000 MS/MS e coluna sílica fundida com 100 m de comprimento (fase estacionária PONA). Foi utilizado hélio como gás de arraste sob pressão da coluna de 49,5 psi. A condição inicial de temperatura foi de 120°C durante 22 minutos, com posterior elevação para 230°C durante 20 minutos com razão de aquecimento de 10°C por minuto. O volume de 0,2 µL de óleo essencial injetado com razão de split 200 e temperatura de injeção de 200 °C. A identificação dos constituintes químicos foi realizada comparando-se à biblioteca da Nist 98 (Varian Inc.).

As médias foram testadas quanto à sua homogeneidade pelo teste de Bartlett. Os resultados obtidos submetidos à análise de variância e as médias dos tratamentos comparadas por regressão polinomial e pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade. Utilizou-se o programa Assistat versão 7.4 beta (SILVA e AZEVEDO, 2006).

3.3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

Não houve diferença entre os diferentes tempos de extração no rendimento do óleo essencial de patchouli, sendo a maior média obtido de 56,3 $\mu\text{L}\cdot\text{g}^{-1}$ massa seca com 7 horas (Figuras 3).

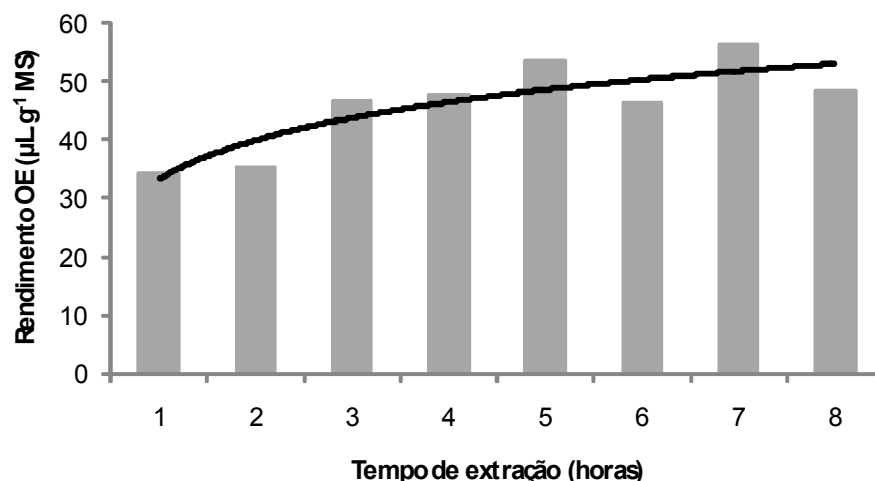


FIGURA 3 - Rendimento do óleo essencial de patchouli em função dos diferentes tempos de extração. Curitiba-PR, 2006.

Observa-se, que apesar não ter apresentado diferença significativa, há uma tendência do aumento no rendimento de óleo essencial com o aumento no tempo de extração. O que ocorrer até certo ponto, onde a partir de então, o incremento torna-se insignificante ou inexistente, não havendo mais aumento do rendimento. Resultados semelhantes foram encontrados por PRINS et al. (2006) que não observaram o efeito significativo do tempo de hidrodestilação no rendimento de óleo essencial de alecrim (*Rosmarinus officinalis*), ao avaliarem os diferentes tempos de extração (30, 60, 90 e 120 minutos) no rendimento de óleo essencial em folhas secas.

Em estudos similares feitos por SILVA et al. (2005), resultados divergentes foram encontrados, onde o tempo de extração influenciou no rendimento da espécie.

Os autores avaliaram diferentes métodos e tempos de extração (1, 2, 4 e 6 horas) de óleo essencial em pimenta rosa (*Schinus molle*) e constataram que o rendimento foi diretamente proporcional ao tempo de extração, onde a maior média foi obtida com 4 horas (4,61%).

Obteve-se, em média, uma porcentagem de 4,6% de óleo essencial extraído das folhas, valor acima do que foi citado por JOY et al. (2001) e EPAGRI (2004), que relataram um rendimento de 2,5 a 3,5%. Fator que pode estar relacionado a este resultado é o controle da umidade durante a secagem, feito de acordo com a recomendação de MASETTO et al. (2007). Os autores avaliaram o efeito de períodos de secagem, em temperatura ambiente, no rendimento e na qualidade do óleo essencial de patchouli, observando que houve efeito significativo, sendo obtidas médias superiores (36,69 $\mu\text{l.g}^{-1}$) aos 10 dias após a colheita quando o tecido foliar apresentava aproximadamente 18% de umidade.

A análise química das amostras do óleo essencial de patchouli apresentou nos diferentes tratamentos, os constituintes (Tabela 1): beta-guaieno (0,49% a 0,81%), beta-patchouleno (0,65% a 1,26 %), seicheleno (0,63% a 1,09%), alfa-selineno (0,76% a 1,37%), cariofileno (1,33% a 2,44%), alfa-patchouleno (1,79% a 3,08%), gama-patchouleno (2,93% a 4,82%), alfa-guaieno (3,67% a 6,48%), pogostol (4,20% a 5,11%), alfa-bulneseno (5,01% a 8,99%) e patchoulol (55,74% a 64,81%). As porcentagens relativas dos constituintes diferem daquelas estabelecidas pela ISO (3757:2002) vista no capítulo anterior. A ISO estabelece critérios para avaliação da qualidade de diversos produtos incluindo óleos essenciais de diversas espécies aromáticas. Elementos como o alfa-guaieno, beta-patchouleno, pogostol e alfa-bulneseno estão abaixo do citado na ISO, enquanto o patchoulol apresentou porcentagens superiores. Estas diferenças também foram observadas por outros autores (BURÈ e SELIER, 2004; SILVA et al., 2004).

Quanto à análise estatística dos constituintes, houve diferença significativa para a maioria dos constituintes, com exceção do seicheleno, alfa-guaieno, alfa-bulneseno e do patchoulol.

TABELA 1 - Médias dos constituintes do óleo essencial de patchouli (*Pogostemon cablin*) em função dos diferentes tempos de extração. Curitiba-PR, 2006.

Constituintes (%)	Tempos de extração (horas)									
	1	2	3	4	5	6	7	8		
Beta-guaieno			0,50 bc	0,49 c	0,52 bc	0,69 abc	0,73 abc	0,81 a	0,80 a	0,78 ab
Beta-Patchouleno			0,68 b	0,65 b	0,75 b	0,94 ab	0,95 ab	1,26 a	0,98 ab	1,00 ab
Seicheleno			0,67 a	0,63 a	0,74 a	0,86 a	0,93 a	1,09 a	0,94 a	0,95 a
Alfa-selineno			0,86 ab	0,76 b	0,88 ab	1,13 ab	1,22 ab	1,37 a	1,35 a	1,30 ab
Cariofileno			1,43 ab	1,33 b	1,52 ab	2,02 ab	2,15 ab	2,44 a	2,25 ab	2,21 ab
Alfa-patchouleno			1,95 bc	1,79 c	1,96 bc	2,60 abc	2,73 abc	3,08 a	2,98 a	2,92 a
Gama-patchouleno			2,93 bc	2,80 c	3,14 bc	4,03 abc	4,25 abc	4,82 a	4,45 ab	4,40 abc
Alfa-guaieno			4,39 a	3,67 a	4,20 a	5,42 a	5,82 a	6,48 a	6,38 a	6,29 a
Pogostol			4,85 ab	5,05 a	5,11 a	4,67 ab	4,70 ab	4,35 ab	4,20 b	4,47 ab
Alfa-Bulneseno			5,64 a	5,01 a	5,74 a	7,23 a	7,90 a	8,99 a	8,71 a	8,40 a
Patchoulol			64,59 a	63,26 a	64,81 a	60,93 a	58,34 a	55,74 a	56,99 a	57,19 a

Médias seguidas por letras minúsculas distintas diferem entre si nas linhas ao nível de 5% pelo teste de Tukey.

Fonte: Laboratório de análises de combustíveis automotivos (LACAUT)/DEQ/UFPR, 2006.

As maiores porcentagens relativas dos constituintes beta-guaieno, beta-patchouleno, alfa-selineno, cariofileno, alfa-patchouleno e gama-patchouleno foram obtidas com o aumento do tempo de extração, variando entre 6 e 7 horas de extração. Enquanto o pogostol sofreu redução com o aumento do tempo de extração, apresentando maiores porcentagens com 2 e 3 horas de extração.

A diferença encontrada entre as porcentagens relativas dos constituintes pode estar relacionada ao fato destes serem sintetizados a partir de precursores comuns, onde há uma competição pelo substrato por parte dos constituintes. Como por exemplo, a redução do pogostol e o aumento do alfa-bulneseno podem ocorrer devido ao fato de possuírem como precursor comum o cátion guaianil, que em presença de água favorece a síntese do pogostol. Porém a diferenças observadas nos diferentes tempos de extração sugere que pode haver modificações ou degradação durante o processo. DEGUERRY et al. (2006) compararam os sesquiterpenos contidos em uma amostra comercial de óleo essencial de patchouli com os sesquiterpenos encontrados em folhas frescas e sugeriram que muitos constituintes podem ser perdidos ou então incrementados durante o processo de extração. Os autores exemplificaram, com as porcentagens altas de trans-beta-

cariofileno, gama-curcumeno e germacreno D encontrados nos extratos das folhas frescas, porém não no óleo comercial. Em contrapartida, alfa-guaieno, seicheleno e alfa-bulneseno foram encontrados duas ou mais vezes concentrados no óleo comercial comparado ao extrato das folhas.

Outro fato que pode ter influenciado os resultados foram as condições de manejo da cultura. Quando comparamos os resultados obtidos com os estabelecidos pela ISO devemos levar em consideração que as plantas avaliadas não se encontravam nas mesmas condições climáticas e de manejo, o que poderia justificar as diferenças.

PRINS et al. (2006) que ao avaliarem o efeito do tempo de hidrodestilação (30, 60, 90 e 120 minutos) na produção de óleo essencial de alecrim (*Rosmarinus officinalis*), observaram que a concentração dos compostos majoritários α -pineno e β -mirceno foram favorecidos significativamente nos tempos de extração com 90 e 120 minutos. Os autores sugeriram que a hidrodifusão favorece a extração de compostos oxigenados no início da hidrodestilação devido a maior solubilidade deste, porém com o progressivo domínio da volatilidade sobre a hidrodifusão, observaram uma tendência dos compostos oxigenados apresentarem relativa redução em função do aumento do teor dos compostos mais voláteis, de modo que nos tempos de 90 e 120 minutos verificaram-se maiores percentuais de α -pineno e β -mirceno.

3.4 CONCLUSÕES

Nas condições em que foi realizado o experimento, a extração do óleo essencial de patchouli pode ser realizada com 1 hora de extração.

O tempo de extração aumenta as porcentagens relativas do beta-guaieno, beta-patchouleno, alfa-selineno, cariofileno, alfa-patchouleno e gama-patchouleno.

O teor de pogostol reduz com o aumento do tempo de extração.

Os teores dos constituintes patchoulol, alfa-guaieno, alfa-bulneseno e seicheleno não se alteram com o tempo de extração.

3.5 REFERÊNCIAS

BURÉ, C. M.; SELLIER, N. M. Analysis of the essential oil of Indonesian patchouli (*Pogostemon cablin* Benth.) using GC/MS (EI/CI). **Journal of Essential Oil Research**, Carol Stream, v. 16, n. 1, p. 17-19, 2004.

CRAVEIRO, A. A.; FERNANDES, A. G.; ANDRADE, C. H. S.; MATOS, F. J. de A.; ALENCAR, J. W. de. **Óleos essenciais de plantas do nordeste**. Fortaleza: UFC-Departamento de Química Orgânica e Inorgânica, 1981. 210 p.

DEGUERRY, F.; PASTORE, L.; WU, S.; ANTHONY CLARK, J. C.; SCHALK, M. The diverse sesquiterpene profile of patchouli, *Pogostemon cablin*, is correlated with a limited number of sesquiterpene synthases. **Archives of Biochemistry and Biophysics**, New York, v. 37, p. 123-136, 2006.

EHLERT, P. A. D.; BLANK, A. F.; ARRIGONI-BLANK, M. F.; PAULA, J. W. A.; CAMPOS, D. A.; ALVIANO, C. S. Tempo de hidrodestilação na extração de óleo essencial de sete espécies de plantas medicinais. **Revista Brasileira de Plantas Mediciniais**, Botucatu, v. 8, n. 2, p. 79-80, 2006.

EMBRAPA AMAZÔNIA ORIENTAL. Descrição de sistema e de métodos de extração de óleos essenciais e determinação de umidade de biomassa em laboratório. Belém: Embrapa Amazônia Oriental, 2004. 6 p. (Comunicado Técnico, 99).

EPAGRI. **Normas técnicas para cultivo de capim-limão, citronela, palma-rosa e patchouli**. Florianópolis, 2004. 58 p. (Sistemas de Produção, 37).

FATT, M. S. **Como produzir essência de citronela**. In: SERVIÇO BRASILEIRO DE RESPOSTAS TÉCNICAS. PRODUTOS (SBRT). Disponível em: <[http://www.sbrt.ibict.br/ upload/sbrt1375](http://www.sbrt.ibict.br/upload/sbrt1375) >. Acesso em: 15/09/2007.

JOY, P. P.; THOMAS, J.; MATHEW, S.; JOSE, G.; JOSEPH, J. 2001. Aromatic plants. Tropical Horticulture Vol. 2. (eds. Bose, T.K., Kabir, J., Das, P. and Joy, P.P.). Naya Prokash, Calcutta, pp. 633-733.

OLIVEIRA, J. M.; RAMIREZ, A. G. **Processos industriais de óleos essenciais: equipamentos utilizados e análises de purezas do óleo**. 2006. In: SERVIÇO BRASILEIRO DE RESPOSTAS TÉCNICAS. PRODUTOS (SBRT). Disponível em: <[http://www.sbrt.ibict.br/ upload](http://www.sbrt.ibict.br/upload) >. Acesso em: 15/09/2007.

PRINS, C. L.; LEMOS, C. S.; FREITAS, S. P. Efeito do tempo de extração sobre a composição e o rendimento do óleo essencial de alecrim (*Rosmarinus officinalis*). **Revista Brasileira de Plantas Mediciniais**, Botucatu, v. 8, n. 4, p. 92-95. 2006.

SANGWAN, N.; FAROOQI, A.; SHABIH, F.; SANGWAN, R. Regulation of essential oil production in plants. **Plant Growth Regulation**, Dordrecht, v. 34, p. 3-21, 2001.

SILVA, F. de A. S.; AZEVEDO, C. A. V. de. A new version of the assistat-statistical assistance software. In: WORLD CONGRESS ON COMPUTERS IN AGRICULTURE, 4., 2006, Orlando. **Anais world congress on computers in agriculture** Orlando: American Society of Agricultural Engineers, 2006. p. 393-396.

SILVA, L. V; CONSTANCIO, S. C.; MENDES, M. F.; COELHO, G. L. Extração do óleo essencial de pimenta rosa (*Schinus molle*) usando hidrodestilação e soxhlet. In: VI CONGRESSO BRASILEIRO DE ENGENHARIA QUÍMICA EM INICIAÇÃO CIENTÍFICA - COBEQ - IC, 2005, Foz do Iguaçu. Anais VI Congresso Brasileiro de Engenharia química em iniciação científica. p. 1-7.

SILVA, M. A. S.; EHLERT, P. A. D.; MING, L. C.; MARQUES, M. O. M. Composition and chemical variation during daytime of constituents of the essential oil of Pogostemon patchouli pellet leaves. **Acta Horticulturae**, The Hague, n. 629, p. 145-147, 2004.

SIMÕES, C. M. O; SPITZER, V. Óleos voláteis. In: SIMÕES, C. M. O. et al. **Farmacognosia da planta ao medicamento**. Porto Alegre: Ed. UFRGS, 2003. 1104 p.

TOLEDO, M. da G. T.; ALQUINI, Y.; NAKASHIMA, T. Caracterização anatômica das folhas de *Cunila microcephala* Benth. (Lamiaceae). **Revista Brasileira de Ciências Farmacognósia**, v. 40, n. 4, 2004.

4 DESENVOLVIMENTO VEGETATIVO, RENDIMENTO E COMPOSIÇÃO DO ÓLEO ESSENCIAL DO PATCHOULI SUBMETIDO A DIFERENTES NÍVEIS DE ADUBAÇÃO NITROGENADA NO PLANTIO E MANUTENÇÃO

RESUMO

O patchouli (*Pogostemon cablin* Beth) é uma planta aromática cuja principal importância comercial está no óleo essencial extraído das folhas. Tem uma vasta utilização na indústria moderna de perfumaria, cosmética e também fitoterápica. Neste trabalho avaliou-se o efeito de diferentes níveis de adubação nitrogenada (30, 60, 90 e 120 Kg.ha⁻¹) no desenvolvimento do patchouli, bem como no rendimento e composição do óleo essencial. O experimento foi conduzido no município de Joinville-SC, de agosto de 2006 a maio de 2007, com delineamento em blocos ao acaso em parcelas subdivididas no tempo, com cinco repetições. Foram executados dois cortes para avaliação dos níveis de nitrogênio após o plantio e na rebrota no acúmulo de massa seca foliar e de ramo, número e comprimento de ramos, área foliar da planta e rendimento e composição do óleo essencial. A aplicação de 30 Kg.ha⁻¹ de nitrogênio no plantio proporciona maior desenvolvimento vegetativo e rendimento de óleo essencial do patchouli. Na adubação de manutenção da cultura recomenda-se a aplicação de 99 Kg.ha⁻¹ de nitrogênio para obter máxima produtividade de óleo essencial. A composição do óleo essencial, aparentemente, não sofreu influência dos diferentes níveis de nitrogênio aplicados em ambas as épocas (plantio e manutenção). As médias do constituinte majoritário patchoulol variaram entre 45,66% e 49,54%.

Palavras-chave: *Pogostemon cablin*, nitrogênio, adubação mineral

ABSTRACT

Patchouli (*Pogostemon cablin* Beth.) is an aromatic plant whose main commercial importance is related to the essential oil from leaves due its large use in the perfum industry. This work evaluated different levels of nitrogen fertilization (30, 60, 90 and 120 Kg.ha⁻¹) at planting and maintenance of patchouli. The experiment was carried out at Joinville-SC from August 2006 the May 2007. The experimental design was completely randomized blocks subdivided in time, with five replications. After two harvests it was determined the leaf and branch dry mass, number and length of branches, leaf area and essential oil yield and composition. The use of 30 Kg.ha⁻¹ of nitrogen at planting provided greater vegetative development and essential oil yield of patchouli. When this fertilizer is used at maintenance, 99 Kg.ha⁻¹ of nitrogen results on great essential oil productivity. The composition of the essential oil was not affected by different nitrogen levels in both the times (plantation and maintenance). The averages of the main constituent patchoulol varied from 45,66% to 49.54%.

Keywords: *Pogostemon cablin*, nitrogen, mineral nutrition

4.1 INTRODUÇÃO

Pogostemon cablin, pertencente à família Lamiaceae, cresce principalmente nos trópicos. É uma planta perene, cultivada principalmente na Malásia, Singapura, China, Indonésia e Índia. Os dois últimos são os maiores produtores de óleo de patchouli no mundo, onde a Índia produz aproximadamente 550 toneladas por ano (JOY et al., 2001; SINGH et al., 2002) e a Indonésia a responsável por 90% da produção mundial (BARATA et al., 2007).

Seu principal produto é o óleo essencial extraído de suas folhas que apresenta o patchoulol como componente majoritário. Este composto atribui ao óleo essencial do patchouli odor característico e aplicação na indústria de perfumaria e cosméticos (JOY et al., 2001).

A composição e rendimento dos óleos essenciais sofrem a influência de fatores genéticos, ambientais e de manejo. Dentre esses fatores está a nutrição, onde pode se destacar o nitrogênio como principal elemento. Apesar de estar em abundância na natureza, na forma de N_2 , na maioria dos solos está presente em pequenas quantidades (FAQUIN, 1994). Esse elemento participa ativamente na síntese de compostos orgânicos que formam estruturas vegetais, tais como: vitaminas, proteínas, pigmentos, aminoácidos, ácidos nucleicos e moléculas de clorofila. Além de participar direta e indiretamente da produção dos metabólitos secundários (ROMEIRO, 1994), estando presente na constituição das moléculas ou na formação de compostos intermediários..

A importância deste elemento no desenvolvimento vegetativo e no rendimento de óleo essencial já foi citada por diversos autores. SINGH (1999) avaliou diferentes doses de nitrogênio (0, 25, 50, 75 $Kg.ha^{-1}$), aplicadas no plantio, na produção de óleo essencial de patchouli, observando maior produção deste (51,88 $Kg.ha^{-1}$) com a aplicação de 50 $Kg.ha^{-1}$ de nitrogênio. PUTTANA et al. (2005) e SINGH et al. (2002) estudaram os efeitos de diferentes níveis de nitrogênio (0, 100, 200 $Kg.ha^{-1}$ por ano) no rendimento de óleo essencial de patchouli, observando aumento na produção com níveis crescentes de nitrogênio aplicado, demonstrando a

importância deste macronutriente tanto para o desenvolvimento como para a produção de óleo essencial.

Este trabalho teve o objetivo de avaliar o desenvolvimento vegetativo do patchouli sob diferentes níveis de nitrogênio na adubação de plantio e de manutenção.

4.2 MATERIAIS E MÉTODOS

O experimento foi conduzido com a espécie *Pogostemon cablin* Benth., em propriedade rural situada no distrito de Pirabeiraba, município de Joinville-SC, localizado a uma latitude de 26°10'48" S, longitude 48°56'22" W e altitude de 0 m, no período de agosto de 2006 a maio de 2007. Apresentando durante a época de condução do experimento temperatura média de 21,4 °C, precipitação média de 155,1 mm e umidade relativa do ar de 77% (Anexos 6 e 7).

Para caracterização química da área experimental, amostras de solo foram coletadas na profundidade de 0-20 cm e enviadas para análise no laboratório de Fertilidade do Departamento de Solos da UFPR.

Devido a importância de recomendação de adubação para o patchouli, os tratamentos foram determinados de acordo com a recomendação de adubação mineral para a cultura da estévia (ROLAS et al., 2004), espécie que apresenta características morfológicas semelhantes. Assim os tratamentos nas parcelas foram 50, 100, 150 e 200% da recomendação de adubação nitrogenada para a cultura da estévia (Anexo 5) nas condições do solo descritas na análise (Anexo 4). Os tratamentos, então, consistiram da aplicação de 30, 60, 90 e 120 Kg.ha⁻¹ de nitrogênio em duas épocas, no plantio e na manutenção, sendo a aplicação parcelada, em ambas as épocas, com 50% no plantio e 50% de cobertura (20 dias após). Ainda foram aplicados, no plantio e na manutenção, 30 e 70 Kg.ha⁻¹ de P e K (respectivamente), ainda seguindo as recomendações para estévia. Foram utilizadas

como fontes de nutrientes a uréia (45% de N), o superfosfato triplo (41% de P) e o cloreto de potássio (58% de K).

O delineamento experimental foi de blocos ao acaso, em parcelas subdivididas no tempo, com cinco blocos. Cada bloco apresentava quatro tratamentos, totalizando 20 parcelas de 16 m², com seis plantas úteis cada. Inicialmente foi feita a correção do pH do solo para 6,0, com aplicação de 4,2 t.ha⁻¹ de CaCO₃, aproximadamente 150 Kg de calcário “filler” (100%). A distribuição foi manual, com incorporação mecânica ao solo com grade de discos, na profundidade de 0-20 cm (Figura 4).



FIGURA 4 – a) Aplicação do calcário, b) área experimental de patchouli em agosto de 2006. Joinville-SC, 2006.

Fonte: O autor (2006)

O preparo do solo, plantio e a primeira parcela da adubação com NPK, foram realizados no mês de agosto de 2006 e vinte dias após, foi realizada a complementação da adubação nitrogenada de plantio. O espaçamento entre plantas foi de 1x1 m, com 1 m entre blocos. Entre 15 e 20 dias foram feitas as reposições das mudas perdidas. Após seis meses (fevereiro de 2007), foi realizada a primeira colheita seguida da adubação de manutenção. Após três meses (maio de 2007) foi realizada a segunda colheita, sendo novamente realizada a complementação da adubação nitrogenada de plantio após vinte dias (Figura 5).



FIGURA 5 - Área experimental de patchouli após adubação de plantio (a) e adubação de manutenção (b). Joinville-SC, 2007.

Fonte: O autor (2007)

As colheitas foram realizadas cortando-se a planta a 15 cm do solo, mantendo duas gemas por ramo. Avaliou-se o desenvolvimento vegetativo da espécie a partir da determinação do comprimento e número de ramos, massa seca foliar e de ramos e área foliar. Para obtenção da massa seca dos ramos, o material foi seco em estufa de circulação de ar fechada, com 65°C, até atingir massa constante. Para determinação da área foliar foram cortados 100 discos de área conhecida (0,7854 cm²) por planta e em seguida determinado sua massa fresca. Pela massa fresca total de folhas por planta foi estimada a área foliar.

Foram determinados o rendimento e produtividade do óleo essencial. O método utilizado para extração foi a hidrodestilação, utilizando-se aparelho tipo Clevenger com balão volumétrico de 2 L, no Laboratório de Ecofisiologia/UFPR, Curitiba-PR. Utilizou-se 100 g de tecido foliar seco à sombra até atingir aproximadamente 20% de umidade. O material então foi colocado no balão, em contato com 1 L de água destilada. O tempo de extração adotado foi de 5 horas. As amostras foram coletadas com pipeta de Pasteur e armazenadas em ependof, tomando cuidado para retirar o excesso de água da amostra de óleo, e posteriormente para a quantificação deste utilizou-se de micropipeta (10 - 100 µm). Após este período as amostras de óleo essencial foram mantidas em congelador aonde permaneceram até o momento das análises. Da mesma amostra de onde foi

retirado o material para extração, foram separados 100 g para determinação do teor de umidade, através da secagem em estufa com circulação de ar fechada, à 65°C.

As análises dos constituintes químicos do óleo essencial foram feitas por meio de cromatografia a gás acoplada à espectrometria de massas no Departamento de Engenharia Química da UFPR. O cromatógrafo utilizado foi da marca Varian Inc. (modelo CP-3800), com detector Saturn 2000 MS/MS e coluna sílica fundida com 100 m de comprimento (fase estacionária PONA). Foi utilizado hélio como gás de arraste sob pressão da coluna de 49,5 psi. A condição inicial de temperatura foi de 120°C durante 22 minutos, com posterior elevação para 230°C durante 20 minutos com razão de aquecimento de 10°C por minuto. O volume de 0,2 µL de óleo essencial injetado com razão de split 200 e temperatura de injeção de 200 °C. A identificação dos constituintes químicos foi realizada comparando-se à biblioteca da Nist 98 (Varian Inc.).

As médias foram testadas quanto à homogeneidade pelo teste de Bartlett. Os resultados obtidos foram submetidos à análise de variância e as médias dos tratamentos comparadas pela regressão polinomial e pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade pelo programa Assistat versão 7.4 beta (SILVA e AZEVEDO, 2006).

4.3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os diferentes níveis de nitrogênio aplicados resultaram em uma maior produção de massa seca foliar na manutenção em relação à adubação de plantio, havendo interação significativa entre os níveis de adubação nitrogenada e as épocas de adubação para a variável massa seca foliar. Além desta superioridade, a adubação de manutenção apresentou maior média de massa seca foliar com a aplicação de 90 Kg.ha⁻¹ de nitrogênio (Figura 6). As demais variáveis não apresentaram interação significativa.

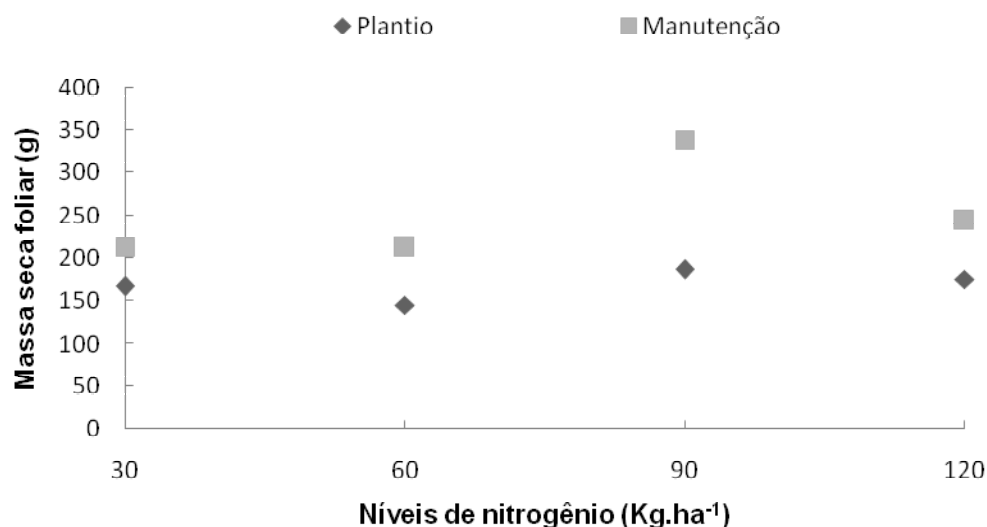


FIGURA 6 - Massa seca foliar de patchouli em função da interação das épocas de adubação (plantio e manutenção) e dos diferentes níveis de adubação nitrogenada. Joinville-SC, 2007.

Entre as épocas de adubação observou-se que, para as variáveis massa seca, número e comprimento de ramos e área foliar, a adubação de plantio apresentou resultados superiores (Tabela 2). Sugerindo que após a adubação de plantio houve um maior desenvolvimento vegetativo das plantas. Contudo, os menores valores encontrados após a adubação de manutenção podem ter sido influenciados pelo menor intervalo até a colheita, visto que a primeira colheita foi realizada após seis meses da adubação de plantio e a segunda colheita após três meses a adubação de manutenção.

TABELA 2 - Massa seca (MS), número e comprimento de ramos e área foliar de patchouli após adubação nitrogenada de plantio e manutenção. Joinville-SC, 2007.

Época	MS Ramo g	Número Ramos Un	Comprimento Ramo cm	Área foliar (m ²)
Plantio	213,5 a	126,6 a	69,2 a	3,05 a
Manutenção	55,9 b	60,1 b	49,9 b	1,48 b

Médias seguidas por letras distintas diferem entre si nas colunas ao nível de 5% pelo teste de Tukey.

Em estévia, LIMA FILHO e MALAVOLTA (1997), ao estudarem sintomas de desordem nutricional na cultura, observaram que em plantas deficientes de nitrogênio parecia ocorrer a inibição das gemas axilares ocasionando a menor ramificação dos caules. Em patchouli, apesar de não ter sido observada nenhum sintoma de deficiência nutricional, houve maior ramificação com o aumento do nível de nitrogênio na adubação de manutenção, se comparado ao menor nível, o que poderia sugerir que baixos níveis ou a deficiência deste nutriente poderiam prejudicar seu desenvolvimento e manejo de colheita.

SINGH et al. (2002), ao avaliarem a produção de biomassa, rendimento e qualidade do óleo essencial de patchouli submetido a diferentes dosagens de nitrogênio (0, 100 e 200 Kg.ha⁻¹), cultivado no clima tropical semi-árido do sul da Índia, verificaram que, tanto no primeiro como no segundo ano, houve aumento da produção de biomassa fresca com o aumento da dose de nitrogênio, sendo a fonte utilizada a uréia, atingindo máximo de produção (8,47 t.ha⁻¹.ano⁻¹) com aplicação de 200 Kg.ha⁻¹.

LIMA FILHO e MALAVOLTA (1997) ainda citam que a carência de nitrogênio pode diminuir o tamanho das células e aumentar a espessura de suas paredes. A expansão e a divisão celular diminuem, havendo redução no tamanho de todas as partes morfológicas da planta, principalmente flores e folhas. Fato que justificaria a maior área foliar em níveis superiores de nitrogênio após a adubação de manutenção. De acordo com a análise de regressão, que foi significativa para equação de segundo grau a dosagem ótima para maior desenvolvimento de área foliar de patchouli é de 83,7 Kg.ha⁻¹ (Figura 7).

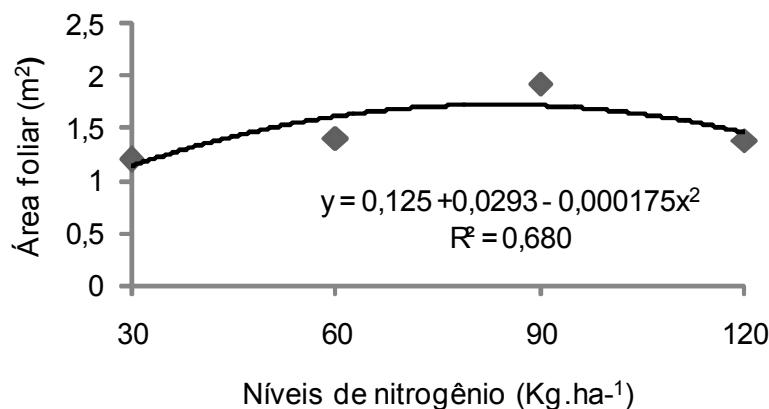


FIGURA 7 - Área foliar de patchouli após a aplicação de diferentes níveis de adubação nitrogenada em manutenção. Joinville-SC, 2007.

As diferenças encontradas entre as variáveis analisadas após adubação de plantio e de manutenção da cultura podem ter sido ocasionadas pela idade em que as plantas se encontravam no momento da colheita. A primeira colheita foi realizada seis meses após o plantio, enquanto a segunda aos três meses após a rebrota, conforme recomendação (EPAGRI, 2004) para a cultura. Plantas mais velhas apresentam menor número de folhas, porém totalmente expandidas, o que resulta em uma maior área foliar, assim como maior número e comprimento de ramos.

Nas adubações de plantio e manutenção, não houve diferença significativa no rendimento de óleo essencial nos diferentes níveis de adubação nitrogenada aplicados. O maior rendimento ocorreu após adubação de manutenção (Tabela 3).

TABELA 3 - Rendimento ($\mu\text{L.g}^{-1}$ MS) de óleo essencial de patchouli após adubação nitrogenada de plantio e manutenção. Joinville-SC, 2007.

Níveis de N	Plantio	Manutenção
30 Kg.ha ⁻¹	15,8	26,5
60 Kg.ha ⁻¹	18,9	25,6
90 Kg.ha ⁻¹	17,7	24,8
120 Kg.ha ⁻¹	16,8	25,7
Média	17,3 b	25,6 a

Médias seguidas por letras distintas diferem entre si nas linhas ao nível de 5% pelo teste de Tukey.

Entretanto para a variável produtividade de óleo essencial, após a adubação de manutenção, foi observado, de acordo com a equação quadrática obtida pela regressão polinomial, que a aplicação de 99 Kg.ha^{-1} de nitrogênio proporciona máxima produtividade de óleo essencial (Figura 8). O aumento significativo da massa seca foliar e da área foliar nesta época pode justificar a maior produtividade de óleo essencial após adubação de manutenção, conforme sugerido por CASTRO et al. (2004), que relatam a aplicação de adubos como fator de influência na produção de óleos essenciais através do aumento da biomassa por unidade de área.

O valor de adubação encontrado diferiu dos encontrados por SINGH et al. (2002) e PUTTANA et al. (2005) que observaram maior produção de óleo essencial com a aplicação de 200 Kg.ha^{-1} de nitrogênio ao ano. Enquanto SINGH (1999) observaram maior produção de óleo essencial com a aplicação de 50 Kg.ha^{-1} de nitrogênio no plantio. Apesar das diferenças, deve-se observar as condições climáticas e de manejo em que os experimentos foram conduzido, podendo estes serem fatores que levaram a estas diferenças. Mostrando a necessidade de estudos específicos, dependendo da regiões onde se deseja implantar a cultura.

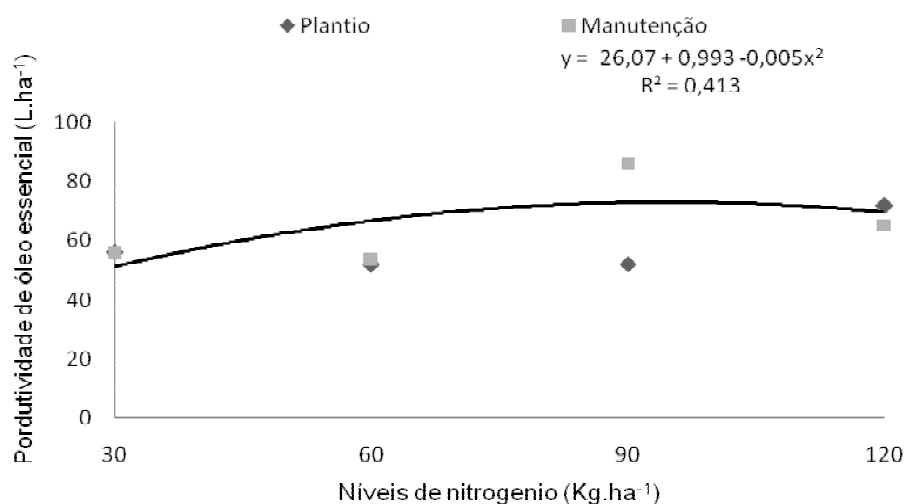


FIGURA 8 – Produtividade (L.ha^{-1}) de óleo essencial em diferentes níveis de adubação nitrogenada aplicados na adubação de plantio e manutenção do patchouli. Joinville-SC, 2007.

A análise das amostras compostas do óleo essencial de plantas desenvolvidas sob diferentes níveis de nitrogênio (plantio e na manutenção) apresentou os seguintes constituintes: beta patchouleno (1,30% - 1,38%), cariofileno (3,11% - 3,14%), alfa-guaieno (8,80% - 8,98%), gama-patchouleno (5,50% - 5,59%), alfa-patchouleno (3,62% - 3,73%), seicheleno (1,29% - 1,34%), beta-guaieno (0,90% - 0,92%), alfa-selineno (1,77% - 1,82%), alfa-bulneseno (12,06% - 13,13%), pogostol (3,91% - 4,22%) e patchoulol (48,05% - 49,13%) na adubação de plantio (Tabela 5); e beta-patchouleno (1,30% - 1,38%), cariofileno (3,16% - 3,40%), alfa-guaieno (9,32% - 9,93%), gama-patchouleno (5,74% - 6,26%), alfa-patchouleno (3,78% - 4,06%), seicheleno (1,54% - 1,62%), beta-guaieno (1,00% - 1,07%), alfa-selineno (1,83% - 1,94%), alfa-bulneseno (11,50% - 12,29%), pogostol (3,11% - 3,39%) e patchoulol (45,66% - 49,54%) na adubação de manutenção (Tabela 6). Estes dados mostram que, inicialmente, os níveis de adubação nitrogenada não influenciaram a composição do óleo essencial do patchouli.

TABELA 4 – Porcentagem relativa dos constituintes do óleo essencial de patchouli nos diferentes níveis de nitrogênio aplicados após adubação de plantio. Joinville-SC, 2007.

Composto	30 Kg.ha ⁻¹	60 Kg.ha ⁻¹	90 Kg.ha ⁻¹	120 Kg.ha ⁻¹
	%			
Beta patchouleno	1,20	1,18	1,20	1,30
Cariofileno	3,14	3,11	3,11	3,13
Alfa guaieno	8,97	8,97	8,80	8,98
Gama patchouleno	5,59	5,50	5,50	5,50
Alfa patchouleno	3,73	3,73	3,62	3,72
Seicheleno	1,33	1,30	1,34	1,29
Beta guaieno	0,92	0,90	0,90	0,92
Alfa selineno	1,81	1,82	1,77	1,81
Alfa bulneseno	12,32	12,39	12,06	13,13
Pogostol	3,91	4,22	4,03	4,17
Patchoulol	49,13	48,47	48,85	48,05

* Análise do Laboratório de análises de combustíveis automotivos (LACAUT) /DEQ/ UFPR. Curitiba-PR.

TABELA 5 – Porcentagem relativa dos constituintes do óleo essencial de patchouli nos diferentes níveis de nitrogênio aplicados na adubação de manutenção. Joinville-SC, 2007.

Composto	30 Kg.ha ⁻¹	60 Kg.ha ⁻¹	90 Kg.ha ⁻¹	120 Kg.ha ⁻¹
	%			
Beta patchouleno	1,34	1,38	1,30	1,31
Cariofileno	3,16	3,40	3,22	3,18
Alfa guaieno	9,32	9,93	9,44	9,48
Gama patchouleno	5,74	6,26	5,91	5,90
Alfa patchouleno	3,78	4,06	3,83	3,87
Seicheleno	1,54	1,62	1,54	1,57
Beta guaieno	1,02	1,07	1,00	1,03
Alfa selineno	1,83	1,94	1,88	1,92
Alfa bulneseno	11,50	12,29	11,93	12,07
Pogostol	3,11	3,24	3,26	3,39
Patchoulol	45,66	47,35	49,31	49,54

* Análise do Laboratório de análises de combustíveis automotivos (LCAUT) /DEQ/ UFPR. Curitiba-PR.

A ISO (3757:2002) estabelece que o óleo essencial de patchouli deve apresentar as seguintes porcentagens dos constituintes: beta-patchouleno (1,8% - 3,5%); copaeno (traços - 1%); alfa-guaieno (11% - 16%); beta-cariofileno (2% - 5%); bulneseno (13% - 21%); nor-patchoulenol (0,35% - 1%); patchoulol (27% - 35%); gama-patchouleno (1,8% - 3,5%); pogostol (1% - 2,5%). Porém resultados divergentes foram obtidos, onde apenas o cariofileno se enquadra dentro destes valores. Em trabalhos de diferentes autores (BURÉ e SELLIER, 2004; SILVA et al., 2004) as porcentagens dos constituintes do óleo de patchouli também variaram, diferindo dos estabelecidos pela ISO. Observando mais detalhadamente podemos observar que nos diferentes trabalhos, incluindo as plantas analisadas pela ISO, as regiões de cultivo são diferentes, podendo assim justificar as diferenças encontradas. Diferenças, que a depender da aplicação deste óleo, não são negativas, visto que, por exemplo, há um amplo mercado a procura de maior porcentagem do patchoulol na composição do óleo essencial de patchouli.

4.4 CONCLUSÕES

A aplicação de 30 Kg.ha⁻¹ de nitrogênio no plantio proporciona maior desenvolvimento vegetativo e rendimento de óleo essencial do patchouli.

Na adubação de manutenção da cultura recomenda-se a aplicação de 99 Kg.ha⁻¹ de nitrogênio para obter máxima produtividade de óleo essencial.

A composição do óleo essencial não é influenciada pelos níveis de nitrogênio aplicados em ambas as épocas (plantio e manutenção).

4.5 REFERÊNCIAS

BARATA, L. E. S.; VILHA, A. M.; CARVALHO, R. Q. Mercado de perfumaria e cosmética no Brasil. In: III SIMPÓSIO BRASILEIRO DE ÓLEOS ESSENCIAIS, 4., 2005, Campinas. **Anais III simpósio brasileiro de óleos essenciais** Campinas, 2005.

BURÉ, C. M.; SELLIER, N. M. Analysis of the essential oil of Indonesian patchouli (*Pogostemon cablin* Benth.) using GC/MS (EI/CI). **Journal of Essential Oil Research**, Carol Stream, v. 16, n. 1, p. 17-19, 2004.

CASTRO, H. G.; FERREIRA, F. A.; SILVA, D. J. H; MOSQUIM, P. R. **Contribuição ao estudo das plantas medicinais: metabólitos secundários**. 2. ed. Visconde do Rio Branco: Editora Suprema, 2004. 113 p.

EPAGRI. **Normas técnicas para cultivo de capim-limão, citronela, palma-rosa e patchouli**. Florianópolis, 2004. 58 p. (Sistemas de Produção, 37).

FAQUIN, V. **Nutrição mineral de plantas**. Lavras: ESAL/FAEPE, 1994. 226 p.

JOY, P. P.; THOMAS, J.; MATHEW, S.; JOSE, G.; JOSEPH, J. 2001. Aromatic plants. Tropical Horticulture Vol. 2. (eds. Bose, T.K., Kabir, J., Das, P. and Joy, P.P.). Naya Prokash, Calcutta, pp. 633-733.

LIMA FILHO, O. F.; MALAVOLTA, E. Sintomas de desordens nutricionas em estévia *Stevia reubadiana* (Bert.) Bertoni. **Scientia Agrícola**, Piracicaba, v. 54, n. 1-2, 1997.

PUTTANA, K., RAO, R. V. S. P., GOPINATH, C. T., RAMESH, S. Effect of shade and nitrogen on herb yield and longevity of patchouli (*Pogostemon cablin*). **Journal of Medicinal and Aromatic Plant Sciences**, Lucknow, v. 27, n. 2, p. 297-300, 2005.

SOCIEDADE BRASILEIRA DE CIÊNCIA DO SOLO. Comissão de Química e Fertilidade do Solo. **Manual de adubação e calagem para os estados do Rio Grande do Sul e Santa Catarina (Rolas)**. 10. ed. Porto Alegre, 2004. 400 p.

ROMEIRO, A. R. Mecanismos indutores de progresso técnico na agricultura: elementos de uma abordagem evolucionária. **Cadernos de Ciência & Tecnologia**, Brasília, v. 11, n. 1/3, p. 32-57, 1994.

SILVA, F. de A. S.; AZEVEDO, C. A. V. de. A new version of the assistat-statistical assistance software. In: WORLD CONGRESS ON COMPUTERS IN AGRICULTURE, 4., 2006, Orlando. **Anais world congress on computers in agriculture** Orlando: American Society of Agricultural Engineers, 2006. p. 393-396.

SILVA, M. A. S.; EHLERT, P. A. D.; MING, L. C.; MARQUES, M. O. M. Composition and chemical variation during daytime of constituents of the essential oil of *Pogostemon patchouli* pellet leaves. **Acta Horticulturae**, The Hague, n. 629, p. 145-147, 2004.

SINGH, M. Effect of irrigation and nitrogen levels on herbage and oil yield of patchouli (*Pogostemon patchouli*) on alfisols. **Journal of Medicinal and Aromatic Plant Sciences**, Lucknow, v. 21, n. 3, p. 689-691, 1999.

SINGH, M.; SHARMA, S.; RAMESH, S. Herbage, oil yield and oil quality of patchouli [*Pogostemon cablin* (Blanco) Beth.] influenced by irrigation, organic mulch and nitrogen application in semi-arid tropical climate. **Industrial Crops and Products**, Amsterdam, v. 16, p. 101-107, 2002.

5 METABOLISMO, DESENVOLVIMENTO, RENDIMENTO E COMPOSIÇÃO DO ÓLEO ESSENCIAL DE PATCHOULI SUBMETIDO A DIFERENTES NÍVEIS DE NITROGÊNIO

RESUMO

O nitrogênio tem atuação sobre assimilação de carbono, produção de biomassa e rendimento econômico das culturas. É necessário nos processos bioquímicos e na síntese de inúmeros compostos como: aminoácidos, proteínas, ácidos nucleicos e clorofilas. Com o objetivo de avaliar diferentes níveis de nitrogênio nos processos metabólicos e no rendimento e produtividade do óleo essencial de patchouli em casa-de-vegetação, foi montado um experimento em delineamento inteiramente casualizado, com cinco repetições, e com tratamentos de 0, 30, 60, 90 e 120 Kg.ha⁻¹ de nitrogênio. Foram coletados dados de massa seca, número e comprimento de ramos, massa seca e número de folhas e área foliar da planta, além do rendimento e produtividade do óleo essencial, foram feitas as quantificações de clorofilas totais, *a* e *b*, açúcares totais, proteínas e aminoácidos. Com o aumento nos níveis de nitrogênio houve redução nos teores de aminoácidos e açúcares totais e aumento nos teores de proteínas e clorofila *a*. Observou-se que o maior fornecimento de nitrogênio não resultou em um aumento na produção de óleo essencial. O maior desenvolvimento e rendimento de óleo essencial de patchouli foi obtido sem aplicação de nitrogênio. Não foram observadas diferenças na composição do óleo essencial nos níveis de nitrogênio avaliados.

Palavras-chave: *Pogostemon cablin*, óleo essencial, nitrogênio

ABSTRACT

Nitrogen affects carbon assimilation, biomass production and economic yield of the cultures. It is involved in biochemical processes including synthesis of amino acids, proteins, nucleic acids and chlorophylls. To evaluate the effect of different nitrogen levels on patchouli metabolism and the essential oil yield and productivity, an experiment was carried out in a completely randomized design, with five replications, at greenhouse conditions comparing five nitrogen levels (0, 30, 60, 90 and 120 Kg.ha⁻¹). At the end of the experiment, it was evaluated the dry mass accumulation, number and length of branches, leaf dry mass, number and area and essential oil yield and production. Leaf samples were collected in each replication to quantify the chlorophyll (*a*, *b* and total), sugars, proteins and amino acids contents. The increase in nitrogen levels resulted on of amino acid and sugars contents and increase in protein and chlorophyll *a* contents. Nitrogen fertilization did not alter the chemical composition of the essential oil of patchouli. The increase on nitrogen supply did not improve the essential oil production. The great essential oil yield of patchouli were obtained without nitrogen supply. No differences were found on essential oil composition at the evaluated nitrogen levels.

Keywords: *Pogostemon cablin*, essential oil, metabolism

5.1 INTRODUÇÃO

O óleo essencial do patchouli é um dos mais importantes óleos essenciais naturais usados como base e principal fragrância na indústria de perfumes. Das folhas, depois de secas, é retirado o óleo essencial cujo composto majoritário é o patchoulol (SINGH et al., 2002).

Os óleos essenciais de espécies aromáticas são sintetizados, armazenados e liberados ao ambiente por várias estruturas especializadas da epiderme ou mesófilo. No patchouli, como na maioria das Lamiaceae, podem ser encontrados em estruturas chamadas tricomas glandulares peltados e/ou em células internas do mesófilo (SANGWAN et al., 2001).

Fatores como ambiente, espécies, manejo da cultura e da pós-colheita poderão afetar o rendimento e qualidade do óleo essencial. Dentro desses fatores o nitrogênio tem recebido muito destaque. Este elemento tem participação tanto no metabolismo primário, quanto no secundário, de onde derivam os constituintes que compõem os óleos essenciais (CASTRO et al., 2004). A deficiência deste nutriente pode influenciar a alocação de carbono assimilado, alterando a proporção de amido, sacarose e monossacarídeos foliares, reduzindo o crescimento, devido à redução na utilização de assimilados pela planta (CRUZ et al., 2004).

OLIVEIRA et al. (2005) ao avaliarem o teor de óleo essencial em folhas de erva-doce (*Foeniculum vulgare*) adubada com esterco bovino e formulação mineral NPK (100 Kg.ha⁻¹ de superfosfato simples, 88 Kg.ha⁻¹ cloreto de potássio e 100 Kg.ha⁻¹ de sulfato de amônio, parcelado em 50% aos 30 e 50% aos 60 dias), observaram que a adubação orgânica elevou a concentração do óleo essencial. CARVALHO et al. (2005) também observaram elevação no teor de óleo essencial em capim santo (*Cymbopogon citratus*) adubado com matéria orgânica.

O objetivo do presente trabalho foi avaliar o efeito de diferentes níveis de nitrogênio no metabolismo e no rendimento do óleo essencial de patchouli cultivado em casa-de-vegetação.

5.2 MATERIAIS E MÉTODOS

O experimento foi conduzido em condições de casa-de-vegetação no Departamento de Fitotecnia e Fitossanitarismo da Universidade Federal do Paraná do período de junho a setembro de 2007. A espécie foi *Pogostemon cablin* Benth., sendo as mudas obtidas pelo método de estquia, retiradas de plantas matrizes adultas, com aproximadamente 18 meses. O substrato utilizado foi solo, de onde foi coletada uma amostra para análise química (Anexo 12).

O delineamento experimental foi inteiramente casualizado, com cinco repetições, sendo cada parcela composta por seis vasos de 4 Kg, com uma planta por vaso. Os tratamentos avaliados incluíram os níveis de adubação nitrogenada (0, 30, 60, 90 e 120 Kg.ha⁻¹) que foram determinados com base na recomendação para a cultura da estévia (Anexo 5). A aplicação do nitrogênio foi parcelada, sendo aplicados 50% no momento da implantação do experimento e 50% 20 dias após.

A calagem foi realizada também de acordo com a recomendação para estévia (ROLAS et al., 2004), corrigindo o pH para 6,0, com a aplicação de 13,3 t.ha⁻¹ de calcário "filler" (100%), além de 130 Kg.ha⁻¹ de P e 70 Kg.ha⁻¹ de K. As plantas foram mantidas sob condição de sombreamento em sombrite 70% (30 % de radiação). As fontes de nutrientes utilizadas foram: uréia (45 % de N), superfosfato triplo (41% de P) e cloreto de potássio (58% de K). Para calcular as quantidades de nutrientes a serem aplicadas em cada vaso, considerou-se a profundidade de 20 cm do solo. A irrigação foi diretamente nos vasos, com a utilização de um Becker, aplicando-se a mesma quantidade de água para todos, variado de 100 a 200 mL de acordo com a necessidade.

Após uma semana do plantio, foi realizada a aplicação do micronutriente boro (0,5 Kg.ha⁻¹), na forma de ácido bórico, devido à manifestação de sintomas de deficiência.

As avaliações foram feitas aos 90 dias após o plantio, onde foram analisadas as seguintes variáveis: número de folhas, número e comprimento de ramos, massa seca foliar e de ramos, área foliar, rendimento e produtividade do óleo essencial.

Também foram coletados materiais para determinação dos teores de aminoácido, proteína, açúcares totais, clorofila *a*, *b* e total.

As médias foram testadas quanto à sua homogeneidade pelo teste de Bartlett. Os resultados obtidos foram submetidos à análise de variância e as médias dos tratamentos comparadas pela regressão polinomial e pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade pelo programa Assistat 7.4 beta (SILVA e AZEVEDO, 2006).

5.2.1 Rendimento, produção e composição do óleo essencial

Para extração do óleo essencial de patchouli foram utilizadas 10 g de folhas secas à sombra e que apresentavam aproximadamente 20% de umidade. O método de extração foi a hidrodestilação em aparelho graduado tipo Clevenger, com capacidade para 2 L. O material foi imerso em 1 L de água destilada e o tempo de extração foi de 5 horas. O óleo essencial obtido, após a extração, foi quantificado e armazenado em congelador, onde permaneceu até o momento das análises.

As análises dos constituintes químicos do óleo essencial foram feitas por meio de cromatografia a gás acoplada à espectrometria de massas no Departamento de Engenharia Química da UFPR. O cromatógrafo utilizado foi da marca Varian Inc. (modelo CP-3800), com detector Saturn 2000 MS/MS e coluna sílica fundida com 100 m de comprimento (fase estacionária PONA). Foi utilizado hélio como gás de arraste sob pressão da coluna de 49,5 psi. A condição inicial de temperatura foi de 120°C durante 22 minutos, com posterior elevação para 230°C durante 20 minutos com razão de aquecimento de 10°C por minuto. O volume de 0,2 µL de óleo essencial injetado com razão de split 200 e temperatura de injeção de 200 °C. A identificação dos constituintes químicos foi realizada comparando-se à biblioteca da Nist 98 (Varian Inc.).

5.2.2 Análises bioquímicas

As análises bioquímicas do experimento foram realizadas no Laboratório de Ecofisiologia da Universidade Federal do Paraná, em outubro de 2007. Foram preparadas duas amostras de cada parcela e feitas as leituras em triplicata (25x2x3) para todas as variáveis analisadas. Utilizou-se o segundo par de folhas totalmente expandidas de patchouli. As mesmas foram coletadas, lavadas em água corrente, secas com papel absorvente, pesadas e armazenadas em congelador até o dia das extrações com tampões. A leitura das absorbâncias foi realizada em espectrofotômetro da marca Shymadzu UV-1601.

5.2.2.1 Determinação de aminoácidos

Para a determinação de aminoácidos foi utilizado o método descrito por BATES et al., 1973. Pesou-se 0,5g de tecido foliar fresco que foi macerado em 10 mL de ácido sulfosalicílico a 3%. O extrato foi centrifugação a 14000 x g, por 10 minutos.

Após a centrifugação, o sobrenadante foi retirado e as amostras congeladas para a dosagem dos teores de aminoácidos. Para as análises foram retirados 2,0 mL das amostras e adicionados 2,0 mL de ninidrina ácida e 2,0 mL de ácido acético. Após adição dos reagentes as amostras foram mantidas em banho-maria, com água fervente, por 1 hora. Após esse período foram resfriadas em gelo.

As leituras das absorbâncias foram feitas em espectrofotômetro em comprimento de onda de 520 nm. As concentrações de aminoácidos foram determinadas através de curva padrão de prolina ($100 \mu\text{g}.\text{mL}^{-1}$).

5.2.2.2 Extração e dosagem de proteínas solúveis totais

Para a determinação de proteínas nos tecidos foliares, foi utilizado o método de Bradford (BRADFORD, 1976), onde 0,5 g de massa fresca foi macerada em 10 mL de solução tampão fosfato 0,2 M pH 7,5. Após maceração, os extratos foram centrifugados por 10 minutos, a 14000 x g e os sobrenadantes retirados e congelados para a dosagem dos teores de proteínas solúveis totais. Para a dosagem foram retirados 40 µL das amostras e adicionados 460 µL de tampão fosfato 0,2 M pH 7,5, e 1,0 mL do reagente de Bradford (1:4, v/v)

As leituras das absorvâncias foram realizadas no comprimento de onda de 630 nm. As concentrações de proteínas foram determinadas através da curva padrão de soro de albumina bovina.

5.2.2.3 Extração e dosagem de açúcares solúveis totais

Para quantificação dos açúcares totais foi utilizado o método do fenol-sulfúrico (DUBOIS et al., 1956), através da maceração de 0,5 g de massa em um almofariz com a adição de 10 mL de solução tampão fosfato 0,2 M pH 7,5. O macerado foi filtrado e centrifugado por 10 minutos, a 14000 x g. O sobrenadante foi retirado e as amostras foram congeladas para a dosagem dos teores de açúcares solúveis totais

Para a dosagem foram retirados 10 µL das amostras e colocado em tubo de ensaio, onde foram adicionados 490 µL de água destilada, 500 µL de fenol a 5% (p/v) e 2,5 mL de ácido sulfúrico concentrado. As leituras das absorvâncias foram realizadas em comprimento de onda de 490 nm. As concentrações de açúcares foram determinadas através de curva padrão de glucose.

5.2.2.4 Determinação de clorofila *a* e *b*

A determinação de pigmentos em patchouli foi realizada a partir do método colorimétrico descrito por LICHTENTHALER (1983). Retirou-se 10 discos foliares com área correspondente a 0,7854 cm² cada, que foram colocados em almofariz (graal), adicionando-se 30 mL de acetona (100%) gelada. A maceração foi realizada com gelo. Em seguida o extrato foi filtrado diretamente em balão volumétrico de 50 mL, devidamente coberto com papel alumínio.

As amostras foram então submetidas à leitura em espectrofotômetro, determinando-se a absorvância nos comprimentos de 645 e 662 nm, para as clorofilas *a* e *b*, respectivamente.

Nos cálculos utilizados para a quantificação de pigmentos consideraram-se as equações de LINDER (1974):

$$\text{Clorofila } a = 11,24.(A662) - 2,04.(A645)$$

$$\text{Clorofila } b = 20,13.(A645) - 4,19.(A662)$$

$$\text{Clorofila } a + b = 7,05.(A662) + 18,09.(A645)$$

5.3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

5.3.1 Desenvolvimento vegetal

Observou-se efeito significativo dos níveis de adubação nitrogenada para a massa seca dos ramos (Figura 9), comprimento médio dos ramos (Figura 10), em ambos os casos com redução das médias com o aumento dos níveis de adubação nitrogenada.

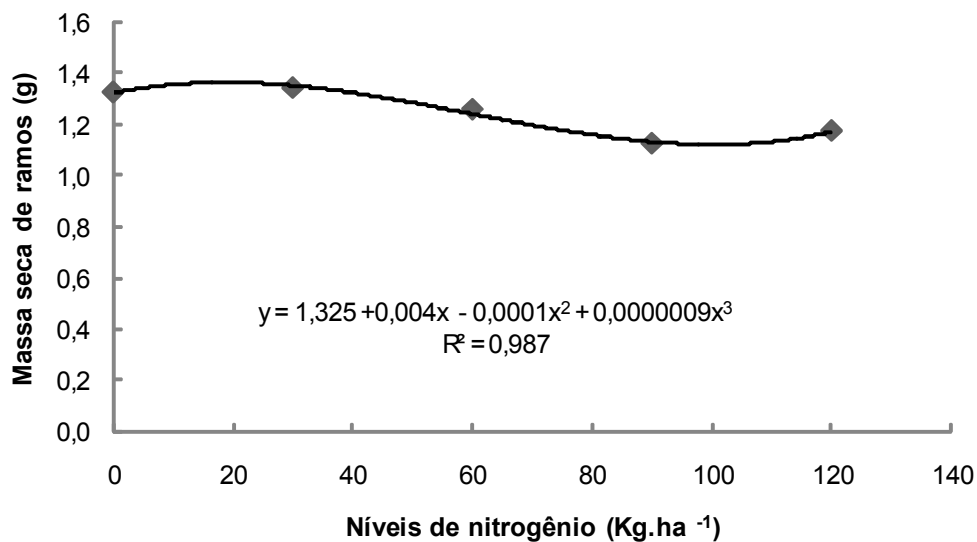


FIGURA 9 - Massa seca de ramos de patchouli submetido a diferentes níveis de adubação nitrogenada. Curitiba-PR, 2007.

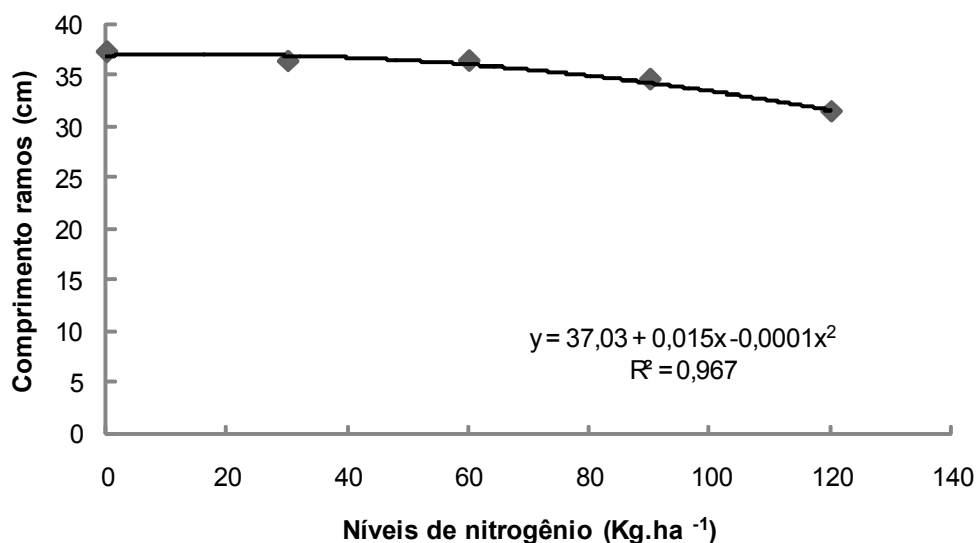


FIGURA 10 - Comprimento de ramos de patchouli submetido a diferentes níveis de adubação nitrogenada. Curitiba-PR, 2007.

Em culturas como a estévia, a deficiência de nitrogênio pode ocasionar abscisão prematura e diminuição na produção de folhas, além de ramos mais finos e mais compridos, causando uma redução generalizada do crescimento da cultura (UTUMI et al., 1999). No trabalho isso não foi observado, mesmo na ausência de

nitrogênio, o que sugere que o nível de nitrogênio no solo pode ter sido suficiente para o bom desenvolvimento da cultura.

A massa seca foliar apresentou comportamento linear, sofrendo uma redução com o aumento dos níveis de adubação nitrogenada (Figura 11). Comportamento semelhante ocorreu no desenvolvimento de área foliar, com redução linear com o aumento dos níveis de nitrogênio (Figura 12).

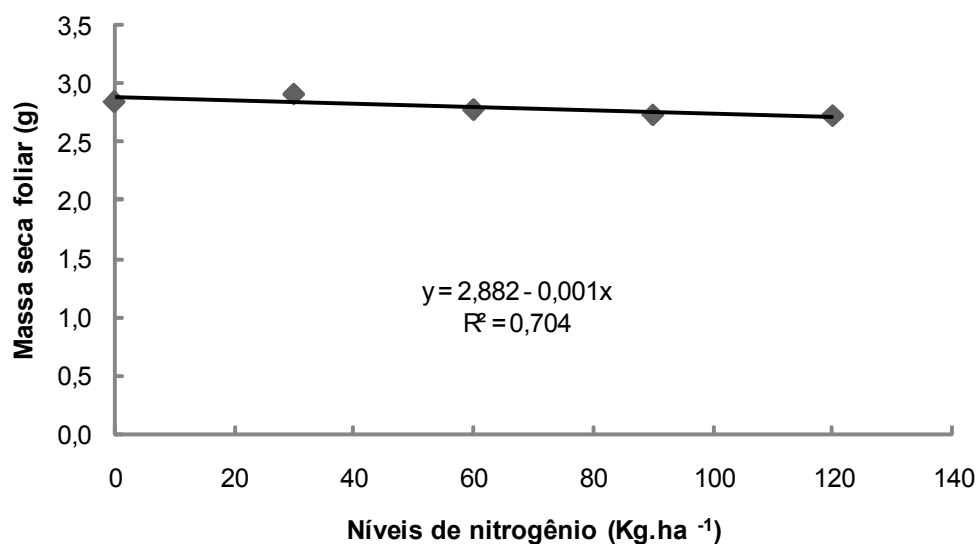


FIGURA 11 - Massa seca foliar de patchouli submetido a diferentes níveis de adubação nitrogenada. Curitiba-PR, 2007

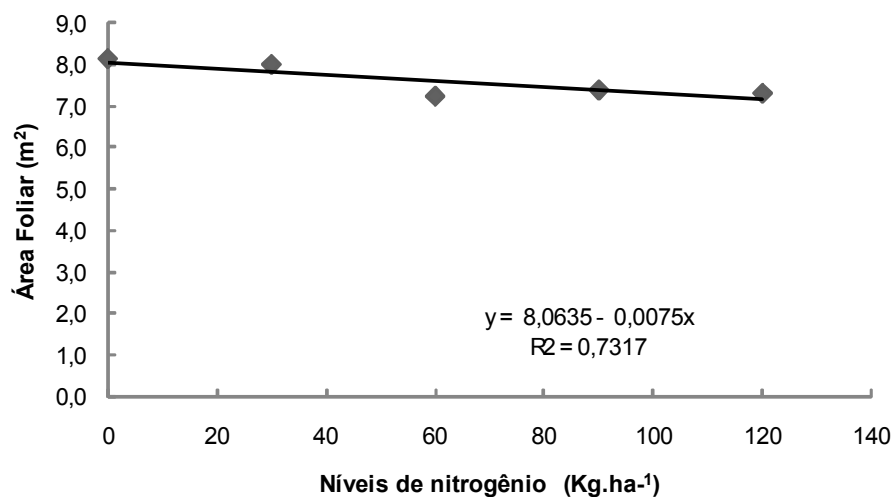


FIGURA 12 - Área foliar de patchouli submetido a diferentes níveis de adubação nitrogenada. Curitiba-PR, 2007.

Para as demais variáveis, número de ramos e número de folhas, não foram observadas diferenças significativas nos diferentes tratamentos.

O tempo de condução do experimento foi curto em relação ao ciclo da planta podendo não ser suficiente para que as plantas expressassem todo seu potencial de desenvolvimento. Além do que a fase inicial de condução do experimento foi durante o inverno, e o fato do experimento ser conduzido em casa-de-vegetação com sombrite, faz com que as condições onde se encontravam os vasos sofressem uma variação em relação ao ambiente, como mostra a Tabela 6. Observa-se, por exemplo, que a radiação fora da casa-de-vegetação é bem menor do que a que chega aos vasos.

TABELA 6 - Dados de radiação, temperatura e umidade relativa do ar coletados, em um dia de pleno Sol, na casa-de-vegetação do Departamento de Fitotecnia da UFPR. Curitiba-PR, 2007.

Variáveis	Radiação ($\mu\text{mol s}^{-1}\text{m}^{-2}$)	Temperatura ($^{\circ}\text{C}$)	Umidade Relativa do ar (%)
Fora Casa de vegetação	1530	27,4	36,0
Dentro casa de vegetação (CV)	1080	28,4	40,4
Vasos (CV+sombrite)	322	30,84	38,8

Fonte: Autor (2007)

Nesta época, de acordo com a tabela 7, houve queda significativa na temperatura (de 13,7°C a 18,2°C), dias mais curtos e menor radiação incidente (de 207,3 a 303,6 $\mu\text{ mol. s}^{-1}\cdot\text{m}^{-2}$).

TABELA 7 - Médias climáticas do município de Curitiba no período de julho a setembro de 2007. Curitiba-PR, 2007.

Dados	Meses (2007)		
	Julho	Agosto	Setembro
Precipitação (mm)	100	8,6	86,4
T(°C) Max.	19,5	21,6	25,3
T(°C) Min.	8,6	10,9	13,2
T(°C) Média	13,7	15,6	18,2
Radiação ($\mu\text{ mol. s}^{-1}\cdot\text{m}^{-2}$)	207,3	244,3	303,6

Fontes: SIMEPAR, 2007.

Sendo o patchouli uma cultura exigente em clima, com temperaturas médias de 24°C a 28°C e umidade relativa em torno de 75%, sugere-se que estes fatores podem ter comprometido a fotossíntese devido a menor radiação incidente e temperaturas desfavoráveis, fazendo com que a planta apresente metabolismo mais lento, e retardando assim seu desenvolvimento.

5.3.2 Resultados das análises bioquímicas

Os aminoácidos encontrados nas folhas do patchouli diminuíram com a aplicação de nitrogênio, apresentando maior teor no tratamento sem nitrogênio, 0,698 $\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$ de massa fresca foliar. Enquanto os teores de proteína apresentaram resposta oposta à dos aminoácidos, havendo maior concentração com o aumento

dos níveis de adubação nitrogenada aplicados, apresentando teor máximo na aplicação de 120 Kg.ha⁻¹ de nitrogênio (Figuras 13).

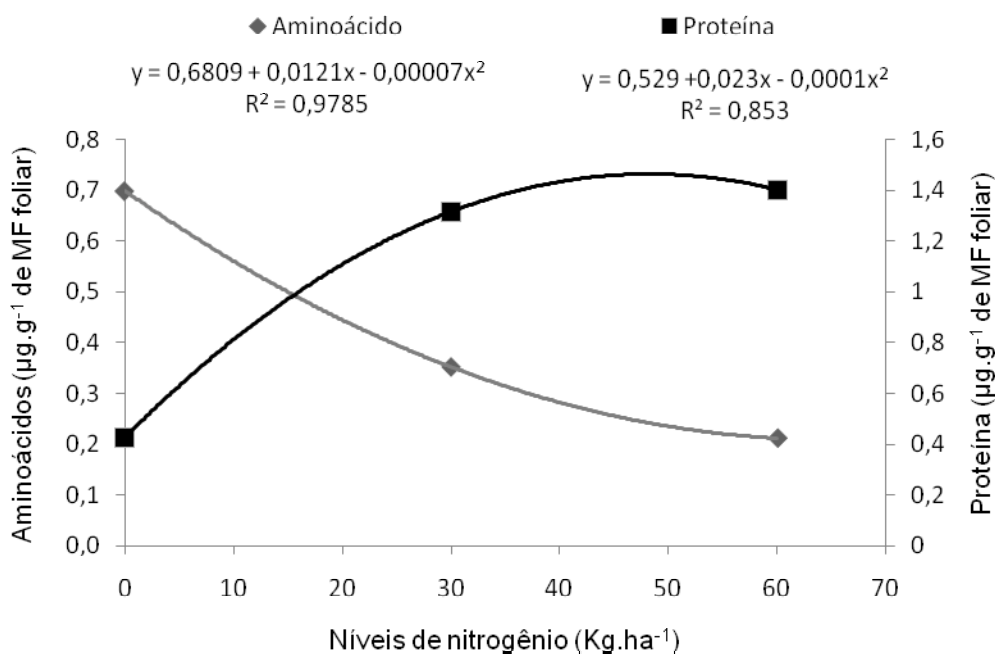


FIGURA 13 - Teores de aminoácidos e proteínas em folhas de patchouli submetido a diferentes níveis de adubação nitrogenada. Curitiba-PR, 2007.

Com o aumento dos níveis de adubação nitrogenada ocorre a síntese de proteínas a partir dos aminoácidos, o que justificaria a redução dos teores de aminoácidos e o aumento nos teores de proteínas com o aumento dos níveis de nitrogênio.

Na figura 14 podemos observar que houve uma redução nos teores de açúcares totais com o aumento dos níveis de adubação nitrogenada aplicados. O maior acúmulo de açúcares (3,838 µg.g⁻¹ de massa fresca foliar) foi observado na aplicação de 30 Kg.ha⁻¹ de nitrogênio. Autores como CRUZ et al. (2004) ressaltam em seu trabalho com mamoeiro, que o acúmulo de açúcares em plantas deficientes de nitrogênio têm sido relacionada com a redução na atividade fotossintética das plantas. Essa inibição teria o objetivo de ajustar a assimilação de CO₂ em função da demanda por carboidratos pelos diferentes drenos da planta em condições de deficiência de nitrogênio.

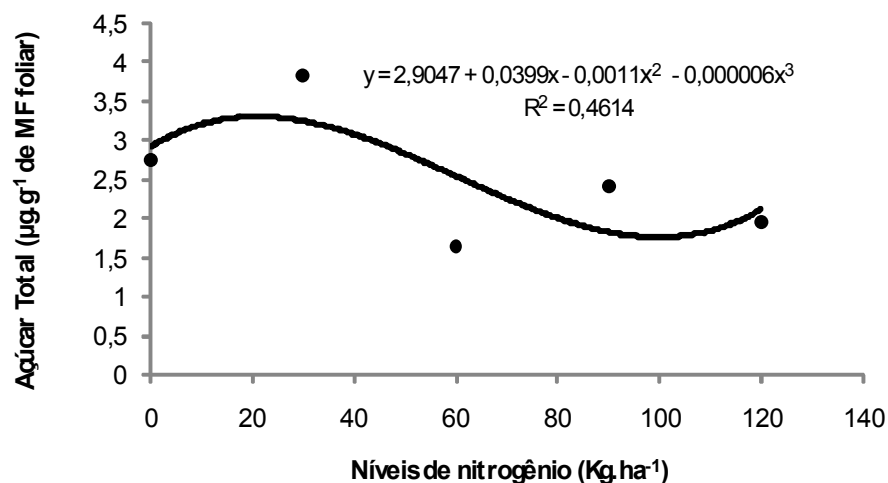


FIGURA 14 - Teores de açúcares totais em folhas de patchouli submetido a diferentes níveis de adubação nitrogenada. Curitiba-PR, 2007.

LIMA FILHO e MALAVOLTA (1997) relatam em seu estudo, ao avaliarem a correlação entre o teor de nitrogênio na folha e a clorofila total, que a deficiência de nitrogênio em estévia resulta em folhas mais velhas com teor de clorofila menor, o que não ocorre em plantas sem esta deficiência, onde os teores de clorofila em folhas novas e velhas são semelhantes. Nas folhas mais velhas de plantas deficientes de nitrogênio, as proteínas são hidrolisadas, resultando em aminoácidos que são redistribuídos para folhas novas e outras regiões. Neste trabalho os teores de clorofila *a* aumentaram com os níveis de adubação nitrogenada aplicados, apresentando máximo teor (555,47 mg.cm⁻²) na aplicação de 120 Kg.ha⁻¹ de nitrogênio (Figura 15). O que pode ser justificado pelo fato do nitrogênio ser componente formado das moléculas de clorofila, podendo ser encontrados ligados ao Mg central. Contudo, os teores de clorofila *b* e total não apresentam diferença significativa nos diferentes níveis de nitrogênio aplicados.

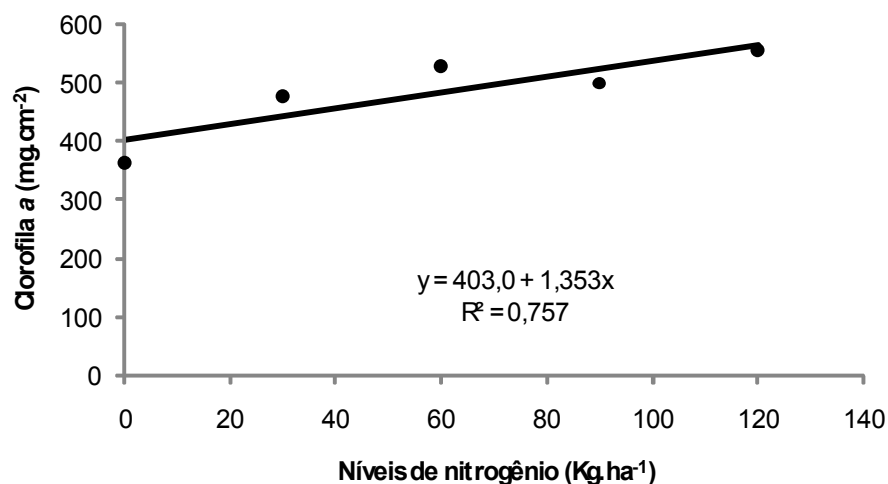


FIGURA 15 - Teores de clorofila *a* de patchouli submetido a diferentes níveis de adubação nitrogenada. Curitiba-PR, 2007.

No experimento, com a redução de açúcar ocorreu uma redução na produção de óleo essencial. Por outro lado houve aumento de proteínas e utilização de carboidratos nos tratamentos com nitrogênio. Isto sugere que a redução na produção de óleo essenciais se deve provavelmente ao metabolismo de carboidratos, onde uma vez fornecido nitrogênio, este será utilizado na produção de proteínas e clorofilas, em detrimento da produção precursores da síntese dos constituintes do óleo essencial.

5.3.3 Rendimento e produção de óleo essencial

Tanto o rendimento quanto a produtividade apresentaram resposta quadrática aos níveis de adubação nitrogenada aplicados. Verificou-se que no tratamento sem nitrogênio, houve maior rendimento e produtividade do óleo essencial de patchouli, havendo uma redução com a aplicação de nitrogênio (Figura 16 e 17).

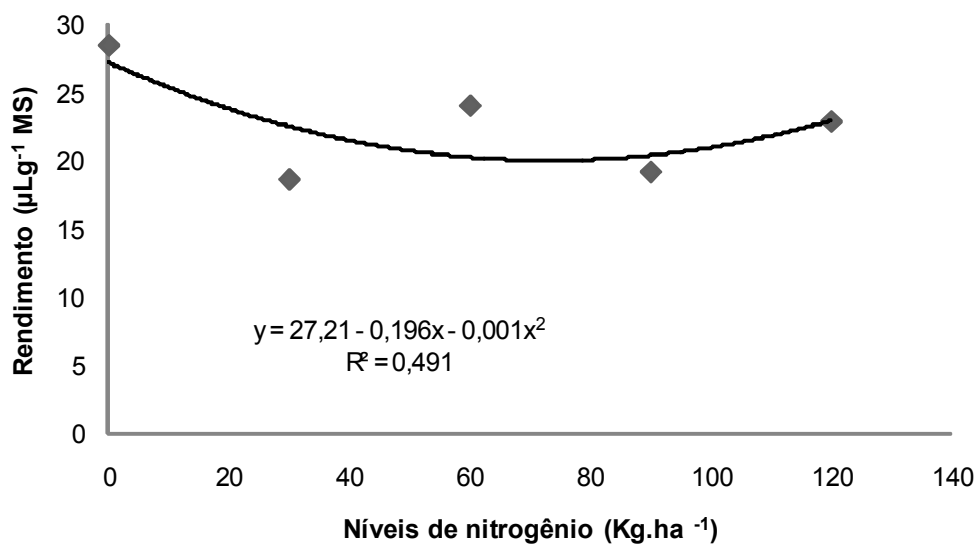


FIGURA 16 - Rendimento de óleo essencial de patchouli submetido a diferentes níveis de adubação nitrogenada. Curitiba-PR, 2007.

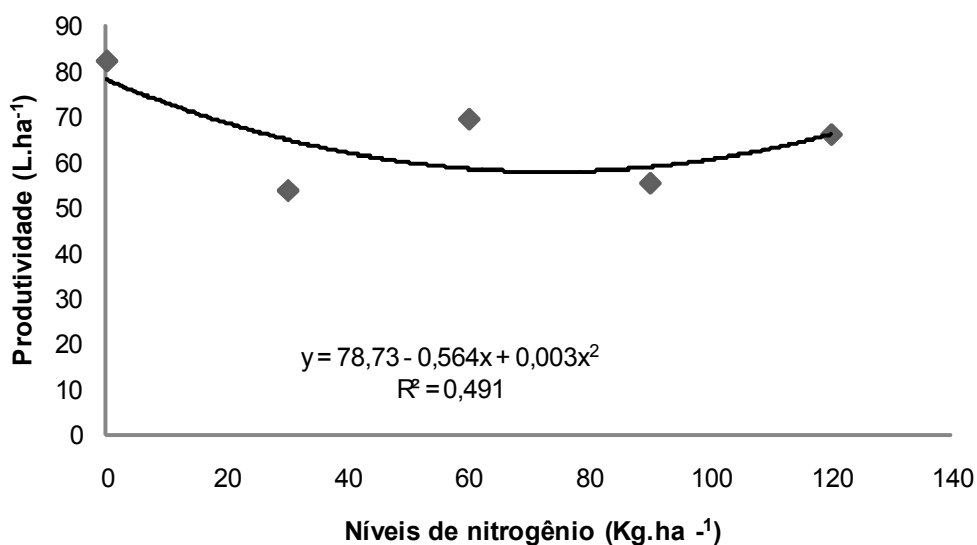


FIGURA 17 - Produtividade de óleo essencial de patchouli submetido a diferentes níveis de adubação nitrogenada. Curitiba-PR, 2007.

LIMA FILHO e MALAVOLTA (1997) relatam que a carência de N diminui o tamanho das células e aumenta a espessura de suas paredes. Este fato poderia causar redução no rendimento de óleo essencial, devido ao maior impedimento de paredes mais grossas, dificultando assim sua liberação. Isto ocorre porque, devido a carência, o nitrogênio é desviado da rota de síntese de hormônio precursores da

divisão celular (ex: giberelinas, citocininas e auxinas) sendo acumulados em rotas mais curtas, como da lignina. Neste experimento, no entanto, os níveis de adubação foram além das necessidades nutricionais da espécie, resultando em menor área e massa seca foliar e interferindo no metabolismo do carbono.

De acordo com a análise da composição química das amostras foi possível identificar as porcentagens relativas para cada um dos constituintes (Tabela 8). Pode-se observar que, aparentemente, os níveis de nitrogênio não influenciaram a composição química do óleo essencial.

TABELA 8 – Porcentagem relativa dos constituintes do óleo essencial de plantas de patchouli submetidas a diferentes níveis de adubação nitrogenada. Curitiba-PR, 2007.

Composto	0 Kg.ha ⁻¹	30 Kg.ha ⁻¹	60 Kg.ha ⁻¹	90 Kg.ha ⁻¹	120 Kg.ha ⁻¹
	%				
Beta patchouleno	1,20	1,15	1,28	1,22	1,26
Cariofileno	3,33	3,35	3,57	3,52	3,49
Alfa guaieno	8,87	9,03	9,76	9,85	10,00
Gama patchouleno	6,06	5,94	6,23	6,58	6,32
Alfa patchouleno	3,78	3,77	4,00	4,14	4,06
Seicheleno	1,44	1,49	1,57	1,55	1,56
Beta guaieno	1,06	1,03	0,92	1,10	1,10
Alfa selineno	1,85	1,97	2,06	2,09	2,04
Alfa bulneseno	12,18	12,97	13,51	13,82	13,14
Pogostol	3,07	3,02	3,05	2,88	3,00
Patchoulol	46,29	45,82	45,35	44,56	45,61

* Análise do Laboratório de análises de combustíveis automotivos (LACAUT) /DEQ/ UFPR. Curitiba-PR.

5.4 CONCLUSÕES

O maior fornecimento de nitrogênio não implica em um aumento na produção de óleo essencial, pois este será utilizado na síntese proteínicas.

O maior desenvolvimento e rendimento de óleo essencial de patchouli são obtidos sem aplicação de nitrogênio.

Com o aumento nos níveis de nitrogênio ocorre redução nos teores de aminoácidos e açúcares totais e aumento nos teores de proteínas e clorofila a.

Não há efeito da adubação nitrogenada na composição química do óleo essencial de patchouli.

5.5 REFERÊNCIAS

BATES, L. S.; WALDERN, R. P.; TEARE, I. D. Rapid determination of free proline for water stress studies. **Plant and Soil**, The Hague, v. 39. p. 205-07, 1973.

BRADFORD, M. M. Rapid and sensitive method for quantification of microgram quantities of protein utilizing principle of protein dye binding. **Analytical Biochemistry**, New York, v. 72, p. 248-254, 1976.

CARVALHO, C. M.; COSTA, C. P.; SOUZA, J. S.; SILVA, R. H. D.; OLIVEIRA, C. L.; PAIXÃO, F. J. R. Rendimento da produção de óleo essencial de capim-santo submetido a diferentes tipos de adubação. **Revista de Biologia e Ciências da Terra**, v. 5, n. 2, p. 23-27, 2005.

CASTRO, H. G.; FERREIRA, F. A.; SILVA, D. J. H.; MOSQUIM, P. R. **Contribuição ao estudo das plantas medicinais: metabólitos secundários**. 2. ed. Visconde do Rio Branco: Editora Suprema, 2004.

CRUZ, J. L.; COELHO, E. F.; PELACANI, C. R.; COELHO FILHO, M. A.; DIAS, A. T.; SANTOS, M. T. dos. Crescimento e partição de matéria seca e de carbono no mamoeiro em resposta à nutrição nitrogenada. **Bragantia**, Campinas, v. 63, n. 3, p. 351-361, 2004.

DUBOIS, M.; GILLES, K. A.; HAMILTON, J. K.; REBERS, P. A.; SMITH, F. Colorimetric method for determination of sugars and related substances. **Anal Chemistry**, Washington, v. 28, p. 350-356, 1956.

LICHTENTHALER, H. K.; WELLBURN, A. R. Determination of total carotenoids and chlorophylls a and b of leaf extracts in different solvents. **Biochemical Society Transactions**, London, v.11, p. 591-592, 1983.

LIMA FILHO, O. F.; MALAVOLTA, E. Sintomas de deordens nutricionas em estévia *Stevia reubadiana* (Bert.) Bertoni. **Scientia Agricola**, Piracicaba, v. 54, n. 1-2, 1997.

LINDER, S. A proposal for the use of standardized methods for chlorophyll determinations in ecological and ecophysiological investigations. **Physiologia Plantarum**, Copenhagen, v. 32, p. 154-156, 1974.

OLIVEIRA, A. P. de; OLIVEIRA, F. J. V. de; MOURA, M. F. de; WANDERLEY, P. A.; LEONARDO, F. de A. P.; NASCIMENTO, J. dos S.; SILVA, K. C.; OLIVEIRA, A. N. P. de. Teor de óleo essencial em erva-doce adubada com esterco bovino e NPK. **Horticultura Brasileira**, Brasília, v. 23, n. 1, p. 32-37, 2005.

SOCIEDADE BRASILEIRA DE CIÊNCIA DO SOLO. Comissão de Química e Fertilidade do Solo. **Manual de adubação e calagem para os estados do Rio Grande do Sul e Santa Catarina (Rolas)**. 10. ed. Porto Alegre, 2004. 400 p.

SANGWAN, N. S.; FAROOQI, A. H. A.; SHABIH, F.; SANGWAN, R. S. Regulation of essential oil production in plants. **Plant Growth Regulation**, Dordrecht, v. 34, p. 3-21, 2001.

SILVA, F. de A. S.; AZEVEDO, C. A. V. de. A new version of the assistat-statistical assistance software. In: WORLD CONGRESS ON COMPUTERS IN AGRICULTURE, 4., 2006, Orlando. **Anais...** Orlando: American Society of Agricultural Engineers, 2006. p. 393-396.

SINGH, M.; SHARMA, S.; RAMESH, S. Herbage, oil yield and oil quality of patchouli [*Pogostemon cablin* (Blanco) Beth.] influenced by irrigation, organic mulch and nitrogen application in semi-arid tropical climate. **Industrial Crops and Products**, Amsterdam, v. 16, p. 101-107, 2002.

UTUMI, M. M.; MONNERAT, P. H.; PEREIRA, P. R. G.; FONTES, P. C. R.; GODINHO, V. de P. C. Deficiência de macronutrientes em estévia: sintomas visuais e efeitos no crescimento, composição química e produção de esteviosídeo. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v. 34, n. 6, p. 1039-1043, jun. 1999.

6 CONSIDERAÇÕES FINAIS

Neste trabalho buscou-se, com a realização dos experimentos em campo e em casa-de-vegetação, desenvolver técnicas de manejo adequadas para o cultivo do patchouli visando a produção de óleo essencial.

Primeiramente, determinou-se o efeito do tempo de extração para adequar a metodologia de hidrodestilação. Algumas considerações, portanto podem ser feitas em função dos resultados obtidos. O tempo de extração não influencia significativamente o rendimento e produção do óleo essencial, obtendo-se rendimento satisfatório com 1 hora de extração. A composição do óleo essencial no entanto foi alterada de acordo com o tempo de extração, não afetando apenas a porcentagem relativa do seicheleno, alfa-guaieno, alfa-bulneseno e patchoulol. O aumento do tempo de extração ocasionou o aumento na porcentagem relativa do beta-patchouleno, cariofileno, gama-patchouleno, alfa-patchouleno, beta-guaieno e alfa-selineno. Já o pogostol reduz com o aumento do tempo de extração.

As porcentagens dos constituintes encontrados não se encaixaram dentro dos padrões estabelecidos pela ISO (3757:2002). O patchoulol, componente de maior importância, encontrou-se acima dos padrões da ISO, porém, atualmente no mercado, estes valores são bem aceitos.

A campo houve interação significativa entre os níveis de nitrogênio e as adubações para a variável massa seca foliar. A aplicação de 30 Kg.ha⁻¹ de nitrogênio no plantio proporciona maior desenvolvimento vegetativo e rendimento de óleo essencial do patchouli. Na adubação de manutenção da cultura, recomenda-se de acordo com o cálculo da equação de regressão, a aplicação de 99 Kg.ha⁻¹ de nitrogênio para obter máxima produtividade de óleo essencial. A composição do óleo essencial, aparentemente, não sofreu influência dos diferentes níveis de nitrogênio aplicados em ambas as épocas (plantio e manutenção).

Em casa-de-vegetação, o maior desenvolvimento e rendimento de óleo essencial foram observados no tratamento sem aplicação de nitrogênio. Resultados que se assemelham aos obtidos no experimento a campo, visto que em ambos os melhores resultados foram obtidos nos menores níveis de adubação nitrogenada. O

maior fornecimento de nitrogênio não implica em um aumento na produção de óleo essencial. O maior desenvolvimento e rendimento de óleo essencial de patchouli são obtidos sem aplicação de nitrogênio. Com o aumento nos níveis de nitrogênio ocorre redução nos teores de aminoácidos e açúcares totais e aumento nos teores de proteínas e clorofila a. Não foi observado influência da adubação nitrogenada na composição química do óleo essencial de patchouli.

Por ser uma espécie exótica, fazem-se necessários outros estudos em relação ao manejo do patchouli na região, como por exemplo, avaliação de espécies mais adaptadas, densidade de plantio, influência da radiação no desenvolvimento da espécie e na produção do óleo essencial. Outros estudos como o efeito de outros nutrientes como o fósforo, que é de extrema importância na agricultura, podendo influenciar na disponibilidade de nutrientes como o nitrogênio, e o micronutriente boro, que apresentou sintomas de deficiência no início do desenvolvimento da cultura, tanto a campo quanto em casa-de-vegetação.

O período entre colheitas também é um fator a ser avaliado, visto que no experimento a campo observou-se que este fator influencia na produção vegetal da cultura. Fatores como altura de corte, época e horário de colheita também são fatores que podem influenciar no resultado final da produtividade de óleo essencial.

Além destes fatores, técnicas mais recentes têm sido empregadas para a produção de óleos essenciais, como o uso de reguladores vegetais com objetivo de estimular o desenvolvimento vegetal, como a síntese dos compostos secundários.

ANEXOS

LISTA DE ANEXOS

ANEXO 1 – Resumo da análise de variância do rendimento de óleo essencial de patchouli em função dos diferentes tempos de extração. Curitiba-PR, 2006.	84
ANEXO 2 – Médias do rendimento e de óleo essencial de patchouli em função dos diferentes tempos de extração. Curitiba-PR, 2006.	84
ANEXO 3 – Resumo da análise de variância a análise química do óleo essencial de patchouli em função dos diferentes tempos de extração. Curitiba-PR, 2006.	85
ANEXO 4 – Características químicas do solo coletado em duas amostras distintas na área experimental do município de Joinville - SC.	86
ANEXO 5 - Recomendação de adubação para a cultura da Estévia	86
ANEXO 6 – Temperaturas mínimas, médias e máximas mensais absolutas para o município de Joinville –SC. Jun/2006 a jun/2007.	87
ANEXO 7 – Dados médios mensais de precipitação, insolação e umidade relativa (UR) do ar para o município de Joinville–SC. Jun/2006 a jun/2007.	87
ANEXO 8 – Resumo da análise de variância para a massa seca foliar, massa seca de ramo, número de ramos, comprimento de ramos, área foliar, e rendimento e produção de óleo essencial no plantio e na manutenção para os diferentes níveis de adubação nitrogenada. Joinville-SC, 2007. .	88
ANEXO 9 – Análise de regressão para o número, comprimento e massa seca (MS) de ramos, massa seca (MS) e número de folhas e área foliar de patchouli após adubação nitrogenada de plantio. Joinville-Sc, 2007.	88
ANEXO 10 – Massa seca (MS) de ramo, número de ramos, comprimento de ramos e área foliar de patchouli após adubação nitrogenada de manutenção. Joinville-SC, 2007.	89
ANEXO 11 – Análise de regressão para o número, comprimento e massa seca (MS) de ramos, massa seca (MS) e número de folhas e área foliar de	

patchouli após adubação nitrogenada de manutenção. Joinville-SC, 2007.	89
ANEXO 12 – Características químicas do solo utilizado no experimento de patchouli em casa-de-vegetação. Curitiba-PR, 2007.	90
ANEXO 13 – Resumos da análise de variância para o número, comprimento e massa seca (MS) de ramos, massa seca (MS) e número de folhas e área foliar de patchouli em casa-de-vegetação submetidos a diferentes níveis de nitrogênio. Curitiba-PR, 2007.	90
ANEXO 14 – Número e comprimento de ramos, massa seca de ramos e foliar, número de folhas e área foliar de patchouli cultivado em casa-de-vegetação submetido a diferentes níveis de adubação nitrogenada. Curitiba-PR, 2007.	90
ANEXO 15 – Resumo da análise de variância do rendimento e produção de óleo essencial de patchouli cultivado em casa-de-vegetação submetido a diferentes níveis de adubação nitrogenada. Curitiba-PR, 2007.	91
ANEXO 16 – Rendimento e produção de óleo essencial de patchouli cultivado em casa-de-vegetação submetido a diferentes níveis de adubação nitrogenada. Curitiba-PR, 2007.	91
ANEXO 17 – Resumo da análise de variância dos teores de aminoácido, proteína, açúcar total, clorofilas <i>a</i> , <i>b</i> e total, medidos de folhas frescas de patchouli cultivado em casa-de-vegetação submetido a diferentes níveis de adubação nitrogenada. Curitiba-PR, 2007.	92
ANEXO 18 – Teores de aminoácidos, proteínas, açúcar total e clorofilas <i>a</i> , <i>b</i> e total em folhas de patchouli cultivado em casa-de-vegetação e submetido a diferentes níveis de adubação nitrogenada. Curitiba-PR, 2007.	92

ANEXO 1 – Resumo da análise de variância do rendimento de óleo essencial de patchouli em função dos diferentes tempos de extração. Curitiba-PR, 2006.

Fator de Variação	GL	Quadrado Médio ($\mu\text{L.g}^{-1}$ MS)
Reg. Linear	1	768,51 ^{ns}
Reg. Quadra	1	235,42 ^{ns}
Reg. Cúbica	1	3,98 ^{ns}
Desvios	4	63,18
Tempos de extração	7	180,09 ^{ns}
Erro	16	197,96
CV (%)		30,58

** significativo ao nível de 1% de probabilidade ($p < 0.01$)

* significativo ao nível de 5% de probabilidade ($.01 \leq p < 0.05$)

ns não significativo ($p \geq 0.05$)

ANEXO 2 – Médias do rendimento e de óleo essencial de patchouli em função dos diferentes tempos de extração. Curitiba-PR, 2006.

Tempos de Extração	Rendimento OE
Horas	$\mu\text{L.g}^{-1}$ MS
1	34,2 a
2	35,4 a
3	46,7 a
4	47,7 a
5	53,3 a
6	46,2 a
7	56,3 a
8	48,3 a
Média	46,0

Médias seguidas por letras minúsculas distintas diferem entre si nas colunas ao nível de 5% pelo teste de Tukey.

ANEXO 3 – Resumo da análise de variância a análise química do óleo essencial de patchouli em função dos diferentes tempos de extração. Curitiba-PR, 2006.

FV	GL	Quadrado médio					
		β Patchouleno	Cariofileno	α Guaieño	γ Patchouleno	α Patchouleno	Seicheleno
Tempos de extração	7	0,12 **	0,55 **	3,65 *	1,81 **	0,81 **	0,07 ^{ns}
Erro	16	0,03	0,13	1,19	0,32	0,12	0,03
Reg. Linear	1	0,53 **	2,99 **	20,76 **	10,08 **	4,69 **	0,38 **
Reg. Quadra	1	0,07 ^{ns}	0,25 ^{ns}	0,21 ^{ns}	0,79 ^{ns}	0,15 ^{ns}	0,04 ^{ns}
Reg. Cúbica	1	0,10 ^{ns}	0,41 ^{ns}	3,47 ^{ns}	1,21 ^{ns}	0,61 *	0,06 ^{ns}
Desvios	4	0,04	0,05	0,28	0,15	0,06	0,01
CV (%)		18,77	19,01	20,48	14,81	13,96	20,58
FV	GL	QM					
Tempos de extração	7		β Guaieño	α Selineno	α Bulneseno	Pogostol	PatchouloI
Erro	16		0,06 **	0,17 **	7,18 *	0,31 *	39,90 ^{ns}
Reg. Linear	1		0,009	0,04	2,12	0,08	20,74
Reg. Quadra	1		0,34 **	1,02 **	41,53 **	1,50 **	227,69 **
Reg. Cúbica	1		0,01 ^{ns}	0,03 ^{ns}	1,10 ^{ns}	0,01 ^{ns}	3,84 ^{ns}
Desvios	4		0,04 ^{ns}	0,15 ^{ns}	6,52 ^{ns}	0,52 *	24,41 ^{ns}
CV (%)			0,003	0,007	0,29	0,04	4,58
			14,6	17,91	20,25	6,1	7,56

** significativo ao nível de 1% de probabilidade ($p < 0.01$)

* significativo ao nível de 5% de probabilidade ($.01 \leq p < 0.05$)

ns não significativo ($p \geq 0.05$)

ANEXO 4 – Características químicas do solo coletado em duas amostras distintas na área experimental do município de Joinville - SC.

Características	Unidades	Área 1	Área 2	Interpretação A1	Interpretação A2
pH	CaCl ₂	4,4	4,3		
	SMP	5,8	5,6	Baixo	Baixo
Al ⁺³		1,2	1,5	Alto	Alto
H ⁺ + Al ⁺³		5,8	6,7		
Ca ⁺²		1,4	2	Baixo	Baixo
Mg ⁺²	cmolc.dm ⁻³	0,9	1,3	Médio	Alto
K ⁺		0,12	0,15	Médio	Médio
SB		2,42	3,45	Médio	Médio
T		8,22	10,15	Médio	Médio
P	mg.dm ⁻³	40,3	11,8	Alto	Médio
C	g.dm ⁻³	16,6	18,4	Médio	Médio
V	%	29	34	Baixo	Baixo
M		33	30		
Ca/Mg		1,6	1,5	Baixo	Baixo
Areia		200,5	627,5		
Silte	g.Kg ⁻¹	249,5	22,5		
Argila		550	350		

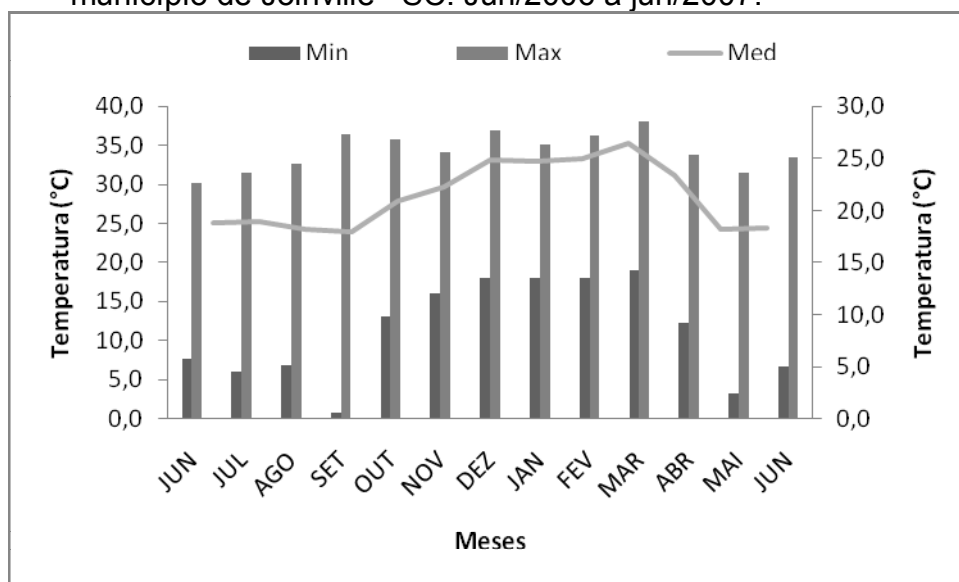
*Análises realizadas no Laboratório de Solos da Universidade Federal do Paraná - UFPR e interpretações de acordo com a EMATER-PR .

ANEXO 5 - Recomendação de adubação para a cultura da Estévia .

Índice de M.O. %	Classificação	N	P ₂ O ₅ Kg. ha ⁻¹	K ₂ O
< 2,5	Baixo	90	130	110
2,6-5,0	Médio	60	60	70
> 5,0	Alto	30	30	40

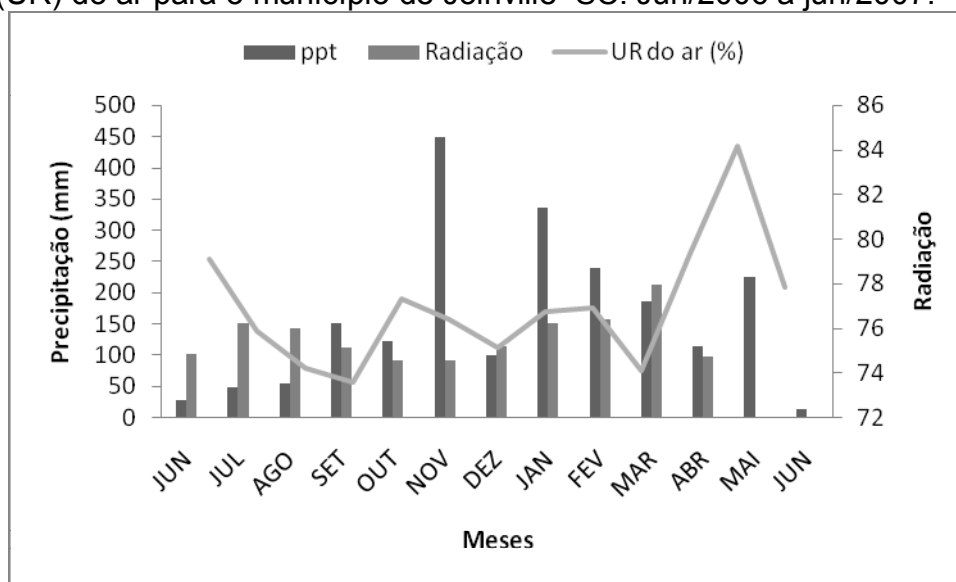
Fonte: ROLAS et al. (2004).

ANEXO 6 – Temperaturas mínimas, médias e máximas mensais absolutas para o município de Joinville –SC. Jun/2006 a jun/2007.



Fonte: Epagri/Ciram/Univille

ANEXO 7 – Dados médios mensais de precipitação, insolação e umidade relativa (UR) do ar para o município de Joinville–SC. Jun/2006 a jun/2007.



Fonte: Epagri/Ciram/Univille

ANEXO 8 – Resumo da análise de variância para a massa seca foliar, massa seca de ramo, número de ramos, comprimento de ramos, área foliar, e rendimento e produção de óleo essencial no plantio e na manutenção para os diferentes níveis de adubação nitrogenada. Joinville-SC, 2007.

Quadrado Médio							
Fontes de Variação	GL	MS Foliar	MS Ramos	N. Ramos	Comp. Ramos	Óleo Essencial	
						Área Foliar	($\mu\text{L.g}^{-1}\text{MS}$) (L.ha ⁻¹)
Níveis N (N)	3	13958,2 ^{**}	1231,2 ^{ns}	411,2 ^{ns}	22,20 ^{ns}	0,74 ^{ns}	2,92 ^{ns}
Repetição	4	3343,1 [*]	2030,8 ^{ns}	1189,6 [*]	452,9 ^{**}	0,49 ^{ns}	6,88 ^{ns}
Error 1	12	707,8	1714,0	230,3	41,7	0,31	11,8
Adubações (A)	1	69550,6 ^{**}	248368,1 ^{**}	4786,8 ^{**}	3699,8 ^{**}	24,5 ^{**}	696,0 ^{**}
AXR	4	584,9 ^{ns}	1676,8 ^{ns}	313,9 ^{ns}	94,0 ^{ns}	0,27 ^{ns}	27,7 [*]
AxN	3	5632,0 [*]	154,5 ^{ns}	640,0 ^{ns}	7,96 ^{ns}	0,02 ^{ns}	8,51 ^{ns}
Erro 2	12	1305,6	1284,6	229,3	30,89	0,32	8,1
CV 1 (%)		12,65	30,73	16,02	10,85	24,80	15,99
CV 2 (%)		17,18	26,60	15,99	9,33	24,94	13,25

^{**} significativo ao nível de 1% de probabilidade (p < 0.01)

^{*} significativo ao nível de 5% de probabilidade (.01 =< p < 0.05)

ns não significativo (p >= 0.05)

ANEXO 9 – Análise de regressão para o número, comprimento e massa seca (MS) de ramos, massa seca (MS) e número de folhas e área foliar de patchouli após adubação nitrogenada de plantio. Joinville-Sc, 2007.

F.V.	G.L.	Quadrado Médio		
		MS ramos	N ramos	Comp. Ramos
Reg. Linear	1	530,38 ^{ns}	52,82 ^{ns}	10,37 ^{ns}
Reg. Quadra	1	533,96 ^{ns}	2475,76 [*]	44,40 ^{ns}
Reg. Cúbica	1	1071,25 ^{ns}	70,12 ^{ns}	0,001 [*]

^{**} significativo ao nível de 1% de probabilidade (p < 0.01)

^{*} significativo ao nível de 5% de probabilidade (.01 =< p < 0.05)

ns não significativo (p >= 0.05)

ANEXO 10 – Massa seca (MS) de ramo, número de ramos, comprimento de ramos e área foliar de patchouli após adubação nitrogenada de manutenção. Joinville-SC, 2007.

Níveis de N	MS Ramo		Número Ramos		Comprimento Ramo		Área foliar (m ²)
	g		Un	cm	cm		
30 Kg.ha ⁻¹	43,6 b		57,8 a	51,7 a		1,20 b	
60 Kg.ha ⁻¹	60,7 ab		55,8 a	48,4 a		1,41 b	
90 Kg.ha ⁻¹	69,3 a		65,7 a	50,7 a		1,93 a	
120 Kg.ha ⁻¹	49,6 ab		61,0 a	48,9 a		1,39 b	

Médias seguidas por letras distintas diferem entre si ao nível de 5% pelo teste de Tukey.

ANEXO 11 – Análise de regressão para o número, comprimento e massa seca (MS) de ramos, massa seca (MS) e número de folhas e área foliar de patchouli após adubação nitrogenada de manutenção. Joinville-SC, 2007.

F.V.	G.L.	MS ramos g	N ramos Un	Quadrado Médio	
				Comp. Ramos cm	Área Foliar m ²
Reg. Linear	1	180,85 ^{ns}	97,00 ^{ns}	9,06 ^{ns}	0,31 [*]
Reg. Quadra	1	1730,17 ^{**}	9,29 ^{ns}	2,96 ^{ns}	0,70 ^{**}
Reg. Cúbica	1	110,54 ^{ns}	178,68 ^{ns}	23,72 ^{ns}	0,46 ^{**}

** significativo ao nível de 1% de probabilidade (p < 0.01)

* significativo ao nível de 5% de probabilidade (.01 =< p < 0.05)

ns não significativo (p >= 0.05)

ANEXO 12 – Características químicas do solo utilizado no experimento de patchouli em casa-de-vegetação. Curitiba-PR, 2007.

pH	PH	cmol/dm ³					cmol/dm ³			g/dm ³	%	%	
cacl ₂	Smp	Al	H+Al	Ca	Mg	K	Sb	T	P	S	C	V	MO
4,3	5,2	1,8	9	0,9	0,4	0,1	1,4	10,4	4,7		24,5	13	4,22

*Análises realizadas no Laboratório de Solos da Universidade Federal do Paraná - UFPR e interpretações de acordo com a EMATER-PR .

ANEXO 13 – Resumos da análise de variância para o número, comprimento e massa seca (MS) de ramos, massa seca (MS) e número de folhas e área foliar de patchouli em casa-de-vegetação submetidos a diferentes níveis de nitrogênio. Curitiba-PR, 2007.

		Quadrado Médio					
F.V.	G.L.	MS foliar	MS ramos	N ramos	Comp. Ramos	N. de folhas	Área Foliar
		g	g	Un	cm	Un	m ²
Reg. Linear	1	0,09 *	0,13 **	0,02 ns	90,18 **	1,38 ns	2,54 **
Reg. Quadra	1	0,001 ns	0,000 ns	0,007 ns	14,31 *	18,16 ns	0,37 ns
Reg. Cúbica	1	0,03 ns	0,04 *	0,004 ns	2,64 ns	0,01 ns	0,07 ns
Desvio	1	0,01	0,002	0,006	0,83	0,90	0,48
Níveis de N	4	0,03 ns	0,04 **	0,009 ns	26,99 **	5,11 ns	0,87 **
Erro	20	0,02	0,007	0,08	1,92	9,62	0,14
CV (%)		4,54	6,83	14,02	3,93	12,35	4,99

** significativo ao nível de 1% de probabilidade (p <0.01)

* significativo ao nível de 5% de probabilidade (.01 =< p <0.05)

ns não significativo (p >= 0.05)

ANEXO 14 – Número e comprimento de ramos, massa seca de ramos e foliar, número de folhas e área foliar de patchouli cultivado em casa-de-vegetação submetido a diferentes níveis de adubação nitrogenada. Curitiba-PR, 2007.

Níveis de N	MS foliar	MS ramos	N ramos	Comp. Ramos	N folhas	Área Foliar
	G	g	Un	cm	Un	m ²
0 Kg.ha ⁻¹	2,85 a	1,33 ab	1,97 a	37,31 a	26,50 a	8,13 a
30 Kg.ha ⁻¹	2,91 a	1,35 a	2,06 a	36,39 ab	24,60 a	7,99 ab
60 Kg.ha ⁻¹	2,78 a	1,26 abc	2,03 a	36,45 ab	24,40 a	7,24 c
90 Kg.ha ⁻¹	2,73 a	1,13 c	2,07 a	34,63 b	24,20 a	7,38 bc
120 Kg.ha ⁻¹	2,72 a	1,18 bc	2,07 a	31,48 c	25,87 a	7,31 bc

Médias seguidas por letras distintas diferem entre si ao nível de 5% pelo teste de Tukey.

ANEXO 15 – Resumo da análise de variância do rendimento e produção de óleo essencial de patchouli cultivado em casa-de-vegetação submetido a diferentes níveis de adubação nitrogenada. Curitiba-PR, 2007.

Fator de Variação	GL	Quadrado Médio	
		$\mu\text{g.g}^{-1}$ MS	L.ha^{-1}
Reg. Linear	1	57,14 ^{ns}	473,58 ^{ns}
Reg. Quadra	1	101,45 [*]	842,03 [*]
Reg. Cúbica	1	22,44 ^{ns}	186,59 ^{ns}
Desvio	1	141,52	1174,20
Níveis de N	4	80,64 [*]	669,10 [*]
Erro	20	20,74	171,98
CV (%)		20,09	20,08

** significativo ao nível de 1% de probabilidade ($p < 0.01$)

* significativo ao nível de 5% de probabilidade ($.01 \leq p < 0.05$)

ns não significativo ($p \geq 0.05$)

ANEXO 16 – Rendimento e produção de óleo essencial de patchouli cultivado em casa-de-vegetação submetido a diferentes níveis de adubação nitrogenada. Curitiba-PR, 2007.

Níveis de N	Rendimento	Produção
	$\mu\text{L.g}^{-1}$ MS	L.ha^{-1} MS
0 Kg.ha^{-1}	28,52 a	82,14 a
30 Kg.ha^{-1}	18,65 b	53,71 b
60 Kg.ha^{-1}	24,08 ab	69,34 ab
90 Kg.ha^{-1}	19,20 b	55,28 b
120 Kg.ha^{-1}	22,91 ab	65,97 ab

Médias seguidas por letras distintas diferem entre si ao nível de 5% pelo teste de Tukey.

ANEXO 17 – Resumo da análise de variância dos teores de aminoácido, proteína, açúcar total, clorofilas *a*, *b* e total, medidos de folhas frescas de patchouli cultivado em casa-de-vegetação submetido a diferentes níveis de adubação nitrogenada. Curitiba-PR, 2007.

FV	GL	Quadrado Médio					
		Aminoácido	Proteína	Açúcar Total	Clorofila A	Clorofila B	Clorofila Total
Reg. Linear	1	0,47 **	1,87 **	4,55 **	82440,6 **	60,19 ns	780445,7 *
Reg. Quadra	1	0,31 **	1,10 **	0,007 ns	13108,3 ns	10563,5 ns	137,2 ns
Reg. Cúbica	1	0,02 **	0,51 **	2,07 *	10861,6 ns	416,7 ns	7023,4 ns
Desvio	1	0,000	0,002	7,74	2360,3	246,9	1080,5
Níveis de N	4	0,20 **	0,87 **	3,59 **	27192,7	2821,8 ns	21571,8 ns
Erro	20	0,001	0,05	0,43	4196,8	7173,8	12800,4
CV (%)		11,62	18,39	26,05	13,38	38,45	16,06

** significativo ao nível de 1% de probabilidade ($p < 0.01$)

* significativo ao nível de 5% de probabilidade ($.01 \leq p < 0.05$)

ns não significativo ($p \geq 0.05$)

ANEXO 18 – Teores de aminoácidos, proteínas, açúcar total e clorofilas *a*, *b* e total em folhas de patchouli cultivado em casa-de-vegetação e submetido a diferentes níveis de adubação nitrogenada. Curitiba-PR, 2007.

Níveis de N	Aminoácido	Proteína	Açúcar Total	Clorofila A	Clorofila B	Clorofila Total
	µg/g		mg.cm ²			
0 Kg.ha ⁻¹	0.698 a	0,426 b	2,756 ab	363,57 b	249,11 a	612,68 a
30 Kg.ha ⁻¹	0.352 b	1,313 a	3,838 a	476,46 ab	206,70 a	683,16 a
60 Kg.ha ⁻¹	0.212 c	1,400 a	1,653 b	527,24 a	190,70 a	717,93 a
90 Kg.ha ⁻¹	0.230 c	1,297 a	2,421 b	498,72 a	216,05 a	714,77 a
120Kg.ha ⁻¹	0.271 c	1,402 a	1,956 b	555,47 a	238,94 a	794,42 a

Médias seguidas por letras distintas diferem entre si ao nível de 5% pelo teste de Tukey.