



## **Rendimento e qualidade físico-química de óleo essencial extraído de diferentes composições da biomassa aérea de pimenta longa**





*Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária  
Centro de Pesquisa Agroflorestal da Amazônia Oriental  
Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento*

ISSN 1676-5265

Setembro, 2004

# ***Boletim de Pesquisa e Desenvolvimento*** 33

## **Rendimento e Qualidade Físico-Química de Óleo Essencial Extraído de Diferentes Composições da Biomassa Aérea de Pimenta Longa**

Francisco José Câmara Figueirêdo  
Sérgio de Mello Alves  
Alberdan Silva Santos  
Olinto Gomes da Rocha Neto

Belém, PA  
2004

Exemplares desta publicação podem ser adquiridos na:

**Embrapa Amazônia Oriental**

Trav. Dr. Enéas Pinheiro, s/n  
Caixa Postal, 48 CEP: 66095-100 - Belém, PA  
Fone: (91) 3204-1000  
Fax: (91) 3276-9845  
E-mail: sac@cpatu.embrapa.br

**Comitê de Publicações**

Presidente: Joaquim Ivanir Gomes  
Membros: Gladys Ferreira de Sousa  
          João Tomé de Farias Neto  
          José de Brito Lourenço Júnior  
          Kelly de Oliveira Cohen  
          Moacyr Bernardino Dias Filho

**Revisores Técnicos**

Kelly de Oliveira Cohen - Embrapa Amazônia Oriental  
Lourivaldo da Silva Santos - Faculdade de Ciências Agrárias do Pará  
Marcus Arthur M. de Vasconcelos - Embrapa Amazônia Oriental

Supervisor editorial: Guilherme Leopoldo da Costa Fernandes  
Revisor de texto: Marlúcia Oliveiera da Cruz  
Normalização bibliográfica: Célia Maria Lopes Pereira  
Editoração eletrônica: Francisco José Farias Pereira  
Revisão final: Regina Alves Rodrigues

**1ª edição**

1ª impressão (2004): 300 tiragem

**Todos os direitos reservados.**

A reprodução não-autorizada desta publicação, no todo ou em parte, constitui violação dos direitos autorais (Lei no 9.610).

---

Rendimento e qualidade físico-química de óleo essencial extraído de diferentes composições da biomassa aérea de pimenta longa / Francisco José Câmara Figueiredo...[et al.]. - Belém, PA: Embrapa Amazônia Oriental, 2004.  
30p. : il. ; 21cm.- (Embrapa Amazônia oriental. Boletim de Pesquisa e Desenvolvimento, 33).

ISSN 1676 -5265

1. Pimenta longa. 2. Óleo essencial. 3. Extração. 4. Safrol.  
I. Figueirêdo, Francisco José Câmara. II. Série.

CDD 633.84

---

© Embrapa - 2004

# Sumário

Resumo .....	5
Abstract .....	6
Introdução .....	7
Material e Métodos .....	8
Resultados e Discussão .....	11
Conclusões .....	26
Agradecimentos .....	26
Referências Bibliográficas .....	27

# Rendimento e Qualidade Físico-Química de Óleo Essencial Extraído de Diferentes Composições da Biomassa Aérea de Pimenta Longa

---

*Francisco José Câmara Figueirêdo<sup>1</sup>*

*Sérgio de Mello Alves<sup>2</sup>*

*Alberdan Silva Santos<sup>3</sup>*

*Olinto Gomes da Rocha Neto<sup>1</sup>*

## Resumo

Neste trabalho, foram estudadas a composição de biomassa e a influência das condições do ambiente sobre o rendimento de extração e a qualidade físico-química de óleo essencial de pimenta longa (*Piper hispidinervium* C. DC.). As variáveis de resposta foram o teor de umidade de biomassa (folhas; ramos plagiotrópicos; ramos ortotrópicos, folhas e ramos finos; e folhas, ramos plagiotrópicos e ramos ortotrópicos); o rendimento de extração em base livre de umidade; o teor de safrol e o índice de refração do óleo essencial. As folhas são as principais fontes de reservas de óleo essencial de pimenta longa, bem como as responsáveis pelos maiores rendimentos de extração e de teor de safrol. A biomassa aérea, composta de folhas e ramos finos, apresenta bom rendimento de óleo e de teor de safrol, destacando-se os meses de agosto a novembro com os melhores para o seu rendimento.

Termo para indexação: *Piper hispidinervium*, rendimento de extração, safrol, índice de refração.

---

<sup>1</sup> Eng. Agrôn., D.Sc., Embrapa Amazônia Oriental, Caixa Postal 48, CEP 66017-970, Belém, PA. E-mail: fjcfc@cpatu.embrapa.br; olinto@cpatu.embrapa.br.

<sup>2</sup> Quím. Ind., M.Sc., Embrapa Amazônia Oriental, Caixa Postal 48, CEP 66017-970, Belém, PA. E-mail: Sergio@cpatu.embrapa.br.

<sup>3</sup> Eng. Quím., D.Sc., Departamento de Engenharia Química, Centro Tecnológico, Universidade Federal do Pará, Rua Augusto Corrêa, 01, Guamá, CEP 66075-900, Belém, PA. E-mail: alberdan@ufpa.br

## **Produce And Physicochemical Quality of Essential Oil Obtained of Differents Compositions of the Aerial Biomass of *Piper hispidinervium***

### **Abstract**

In this work were studied the biomass composition and influence to cultivation environment on the extraction produce and physiochemical quality of essential oil of *Piper hispidinervium*. The answer variables were the rate of biomass humidity (leaves; branches plagiotropic; branches ortotropic, leaves and fine stems; and leaves, branches plagiotropic and branches ortotropic); the produce extraction in freebase from humidity; the rate of safrole and the index of refraction of essential oil. The leaves are the big sources of reserve of essential oil and the responsible for the largest of produce extraction and rate of safrole. The aerial biomass of leaves and fine stems have good oil produce and rate of safrole, and should continue to be indicated for extraction of essential oil of *P. hispidinervium*. The best produce of essential oil and rate of safrole are obtained on August to November months.

Index terms: *Piper hispidinervium*, extraction produce, safrole, refraction index.

## Introdução

A pimenta longa (*Piper hispidinervium*) é uma espécie aromática nativa da Amazônia, da qual é extraído o óleo essencial rico em safrol que, por transformação química, produz a piperonila (butóxido de piperonila) e o ácido piperonílico (heliotropina), utilizados como agente sinérgico em inseticidas naturais e como fixador de fragrância nas indústrias de perfumarias e cosméticos, respectivamente (Maia et al. 1987; Maia & Silva, 1995). De acordo com Alencar et al. (1971), essa Piperaceae adapta-se a solos de baixa fertilidade e é encontrada vegetando os campos de pastagem nativa do Estado do Acre, assim como áreas de capoeira degradada, onde formam populações de grande densidade.

A potencialidade da biodiversidade da Amazônia disponibiliza a pimenta longa como espécie economicamente viável, para compor os sistemas de produção de agricultores de baixa renda ou de agricultura familiar. Essa espécie, quando cultivada e explorada comercialmente, como produtora de matéria-prima para a extração de óleo essencial, tem ciclo semiperene e a rebrota, após o corte da biomassa, é uma importante vantagem em relação às outras culturas, pois dispensa a necessidade de novos plantios a cada ano.

A matéria-prima da pimenta longa é constituída, basicamente, de folhas e talos finos que, ao ser submetida ao processo de extração, por arraste a vapor, libera o óleo essencial, cujo rendimento equivale à cerca de 4% em relação ao peso seco da biomassa (Silva, 1993).

O safrol também pode ser obtido de óleos essenciais extraídos de folhas e talos (hastes) de plantas de outras famílias como de Illiciaceae (*Illicium griffithii* Hook. et Thoms, *Illicium difengpi*); Lauraceae (*Cinnamomum micranthum*, *Sassafras albidum*); Magnoliaceae (*Michelia montana*, *Talauma gioi* Aug. Chev.); Piperaceae (*Peperomia rotundifolia* Schlect. & Cham., *Piper sylvestre*) e Rutaceae (*Zieria* spp.), de acordo com Nguyen et al. (1998), Kouno et al. (1992), Xu et al. (1996), Carlson & Thompson (1997), Dutta et al. (1987), Nguyen et al. (1997a), Bessiere et al. (1994), Gurib (1994), Griffin et al. (1998), respectivamente. No Brasil, a grande referência de espécie vegetal produtora de safrol foi a canela-sassafrás (*Ocotea pretiosa* (Nees) Mez.), espécie da família Lauraceae, muito explorada no Estado de Santa Catarina até a proibição decretada pelo Governo Federal, que tem o objetivo de evitar a sua extinção.

Na pimenta longa, o safrol corresponde de 90% a 94% do peso total do óleo (Silva, 1993), mas esse composto é encontrado em quantidades variáveis nos óleos essenciais de folhas de *Illicium griffithii*, 52,4% a 53,5% (Nguyen et al. 1998); de folhas e polpas de *Talauma gioi*, 70,2% e 72,9% (Nguyen et al. 1997b); de folhas, ramos, caule e raízes de *Cinnamomum* sp., 85,9%, 92,4%, 44,2% e 63,8%, respectivamente (Nguyen et al. 1997a); de folhas, caules, frutos e raízes de *Cinnamomum heyeanum*, 97% a 99% (Cheng et al. 1996).

O objetivo deste estudo foi avaliar a capacidade dos componentes da biomassa de pimenta longa, cultivada sob condições sazonais do Município de Igarapé-Açu, PA, de produzir óleo essencial com boas características físico-químicas.

## Material e Métodos

Neste estudo, utilizaram-se amostras de biomassa obtidas de plantas de pimenta longa cultivadas na Vila de São Jorge do Jabuti, Município de Igarapé-Açu, Estado do Pará, no período de janeiro a dezembro de 2002. A secagem, as extrações e análises do óleo essencial foram realizadas no Laboratório de Agroindústria da Embrapa Amazônia Oriental, em Belém, PA.

A biomassa foi obtida, mensalmente, a partir de cortes de plantas com idade de 2 a 3 anos, sendo respeitada a preservação, no mínimo, de cerca de 2/3 da parte aérea, de modo que fosse possível voltar a fornecer matéria-prima 4 meses após o último corte. Toda a matéria verde obtida foi dividida em 5 lotes, dos quais obtiveram-se os tratamentos experimentais representados por biomassas compostas de folhas; ramos plagiotrópicos; ramos ortotrópicos; folhas e ramos finos (controle); e de folhas, ramos plagiotrópicos e ramos ortotrópicos.

Após o corte, a biomassa representativa dos tratamentos foi submetida ao procedimento de secagem, conduzido à sombra e sob ventilação forçada. O processo de secagem teve a duração de 7 dias.

Os parâmetros de avaliação foram o teor de umidade da biomassa, o rendimento de extração em base livre de umidade, o teor de safrol e o índice de refração do óleo essencial.

A determinação do teor de umidade da biomassa foi baseada no princípio da imiscibilidade do solvente (tolueno) e da água ainda contida na matéria seca. Utilizaram-se 10 g de biomassa, que foram picotados e misturados num balão de fundo redondo, com capacidade para 250 mL, a 70 mL de tolueno e expostos em manta aquecedora à temperatura de  $\pm 120$  °C. Pelo topo do condensador, colocaram-se mais 30 mL de tolueno para permitir o retorno do solvente ao balão. O processo de extração foi conduzido por 90 minutos e, ao final, na escala volumétrica do sistema Dean Stark, realizou-se a leitura da quantidade de água extraída da biomassa. O cálculo do fator de umidade (u) baseou-se na seguinte equação:

$$u = \frac{va}{10} \times 100$$

onde: va é o volume de água extraído (mL) lido na escala volumétrica do aparelho, 10 a massa da amostra de biomassa (g) e 100 o fator de conversão para porcentagem.

Na extração de óleo essencial, foi utilizado o método de coação ou de recirculação de água condensada. Utilizaram-se amostras de 30 g de biomassa picotadas, misturadas, a 500 ml de água destilada e submetidas à temperatura de ebulição da água (100 °C) em manta aquecedora pelo período de 240 minutos.

O rendimento do óleo essencial, extraído de biomassa aérea de pimenta longa, foi calculado com base na matéria seca ou base livre de umidade. No cálculo, utilizou-se a equação (Santos et al. 2004):

$$TO = \frac{vo}{bm - \left( \frac{bmxu}{100} \right)} \times 100$$

onde: TO = teor de óleo em % ou ml de óleo essencial em 100 g de biomassa seca; vo = volume de óleo obtido diretamente na escala do coletor; bm = biomassa vegetal (g);  $bm \times u/100$  = quantidade de umidade ou água presente na biomassa;

$bm - (bm \times u)$  = quantidade de biomassa seca, isenta de água ou livre de umidade; e 100 = fator de conversão para percentagem.

A quantificação de safrol, contido no óleo essencial, foi realizada em cromatógrafo a gás, marca Shimadzu, modelo GC-14A, equipado com detector de ionização de chama e coluna capilar de sílica fundida não-polar (CBP1) de 25 m de comprimento e 0,25 mm de diâmetro interno. O Hélio foi utilizado como gás de arraste, enquanto o injetor interno e o detector foram mantidos à temperatura de 240 °C e “split” de aproximadamente 1:100. A temperatura inicial do forno foi mantida a 170 °C, por 10 minutos, sendo programada para o máximo de 220 °C, com incremento de 5 °C por minuto. Utilizou-se o integrador Shimadzu, modelo C-R5A, Chromatopac, para a quantificação de safrol pelo método de normalização de área.

O índice de refração foi determinado, à temperatura de 25 °C  $\pm$  2 °C, em refratômetro de Bausch & Lomb (Shimadzu Corporation).

Os tratamentos foram distribuídos em parcelas casualizadas, com 4 repetições. Os resultados obtidos foram submetidos à Anova e à comparação de médias pelo teste de Tukey, a 5% de probabilidade (Estat, 1994). Aplicou-se aos resultados médios de teor de umidade da biomassa, de rendimento de extração de óleo essencial, de teor de safrol e de índice de refração do óleo essencial de pimenta longa, o teste de correlação linear de Pearson (Ayres et al. 2003).

Os dados em porcentagens foram transformados, previamente, em valores do arco seno, com base na equação:

$$\% = \text{arc sen } \sqrt{\frac{(x + \alpha)}{100}} .$$

## Resultados e Discussão

De acordo com a Anova, houve diferença significativa entre os teores de umidade da biomassa e os meses de avaliação, bem como para a interação desses fatores. O coeficiente de variação foi de 9,4%.

Na Fig. 1, representam-se os teores médios de umidade da biomassa de pimenta longa composta de folhas; ramos plagiotrópicos; ramos ortotrópicos; folhas e ramos finos; e folhas, ramos plagiotrópicos e ramos ortotrópicos.

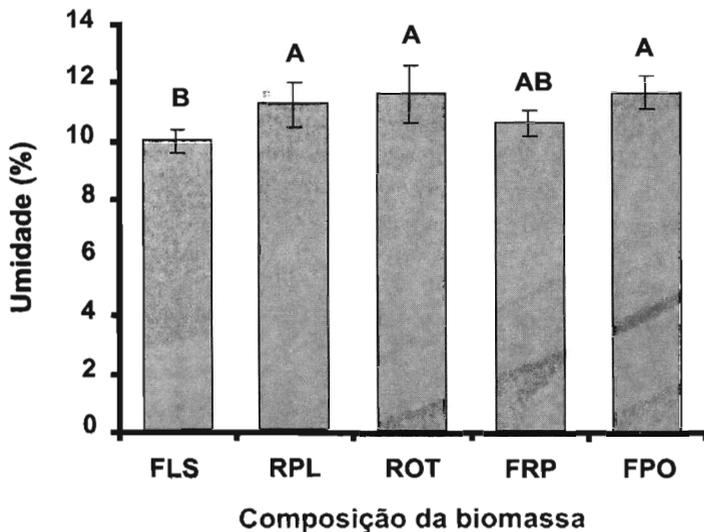


Fig. 1. Teor médio de umidade da biomassa de pimenta longa<sup>(1)</sup> composta de folhas (FLS); ramos plagiotrópicos (RPL); ramos ortotrópicos (ROT); folhas e ramos finos (FRP); e folhas, ramos plagiotrópicos e ramos ortotrópicos (FPO).

<sup>(1)</sup>As mesmas letras indicam que não houve diferença estatística de teor de umidade entre as composições de biomassa (Tukey,  $p \leq 0,05$ );  $n = 4$ ; I = erro padrão da média.

Observou-se que o maior teor de umidade foi registrado para a biomassa constituída de folhas, ramos plagiotrópicos e ramos ortotrópicos, seguiram-se os de biomassa de ramos plagiotrópicos e de ramos ortotrópicos, mas, estatisticamente, foram iguais entre si. Enquanto isso, os menores teores de umidade foram

registrados para as biomassas de folhas e de folhas e ramos finos, que não diferiram entre si. A diferença entre o menor (folhas) e maior (folhas, ramos plagiotrópicos e ramos ortotrópicos) teor de umidade da biomassas foi de apenas 1,7%.

Considerando que a biomassa verde, composta de folhas e ramos finos, apresente teores de umidade que podem variar de 75% (Miranda, 2001) a mais de 80% (Santos et al.2001), o procedimento e o tempo de secagem foram eficientes, quando considerados os teores médios obtidos de umidade da biomassa de folhas e de folhas e ramos finos. Pimentel et al. (1998) obtiveram biomassa seca (folhas e ramos finos) com 10% a 12% de umidade, quando conduziram o processo de secagem à sombra, por períodos de 8 a 12 dias.

Embora não haja registro no referencial teórico sobre os teores de umidade da biomassa verde de ramos plagiotrópicos e de ramos ortotrópicos, e com base nos resultados alcançados, pode-se inferir que os procedimentos adotados para a secagem da biomassa não devem ter concorrido para prejuízos na extração de óleo essencial e na sua composição físico-química.

Na Fig. 2, estão representadas as médias de teor de umidade da biomassa de pimenta longa no período de janeiro a dezembro de 2002.

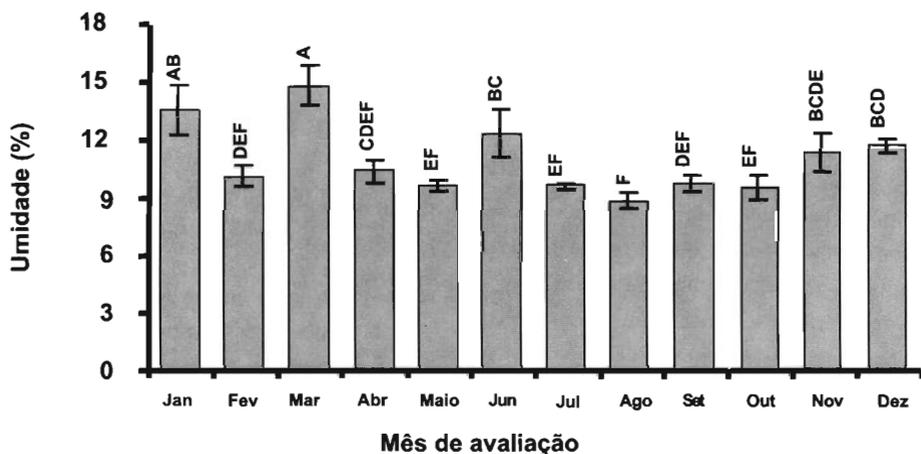
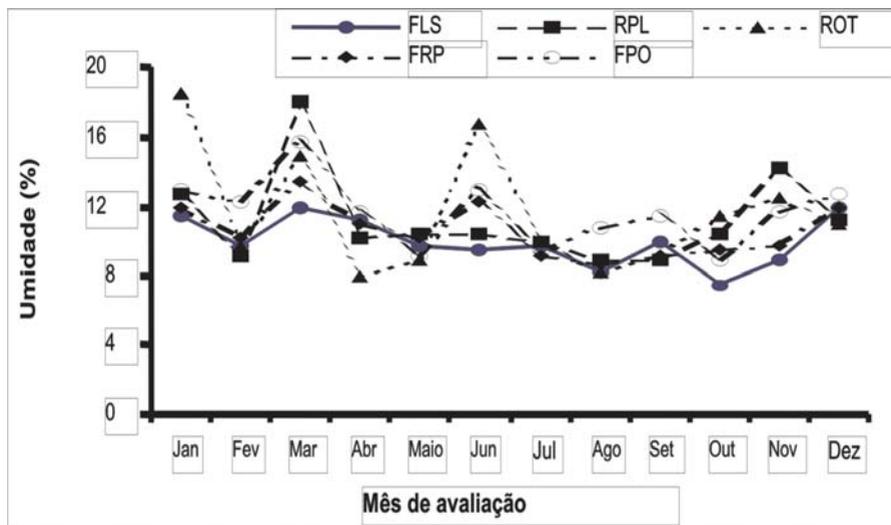


Fig. 2. Teor médio de umidade da biomassa de plantas de pimenta longa<sup>(1)</sup>, no período de janeiro a dezembro de 2002.

<sup>(1)</sup>As mesmas letras indicam que não houve diferença estatística de teor de umidade entre as composições de biomassa (Tukey,  $p \leq 0,05$ );  $n = 4$ ; I = erro padrão da média.

Quando se avaliou o comportamento do teor de umidade da biomassa de pimenta longa, considerando as condições climáticas prevaletentes nos meses de janeiro a dezembro, observou-se que os meses mais quentes e com menores índices de precipitação pluviométrica, entre julho e outubro, favoreceu a secagem da biomassa, com registros dos menores teores médios de umidade nesse período, que variou de 9,0% (agosto) a 9,8% (setembro). Os maiores picos de umidade ocorreram em março (14,9%) e janeiro (13,6%), quando o inverno no Nordeste Paraense estava no seu período mais rigoroso.

Na Fig. 3, representam-se os teores médios de umidade de biomassa de pimenta longa composta de folhas; ramos plagiotrópicos; ramos ortotrópicos; folhas e ramos finos; e folhas, ramos plagiotrópicos e ramos ortotrópicos, após o período de secagem e antes da extração de óleo essencial, no período de janeiro a dezembro de 2002.



**Fig. 3.** Teor médio de umidade de biomassa de pimenta longa composta de folhas (FLS); ramos plagiotrópicos (RPL); ramos ortotrópicos (ROT), folhas e ramos finos (FRP); e folhas, ramos plagiotrópicos e ramos ortotrópicos (FPO), após a secagem, no período de janeiro a dezembro de 2002.

Ao longo dos meses de avaliação, em todas as composições de biomassa de pimenta longa em que as folhas faziam parte, não houve a manifestação significativa do teor de umidade ser maior ou menor nos períodos de incidência ou frequência de chuvas mais ou menos intensas.

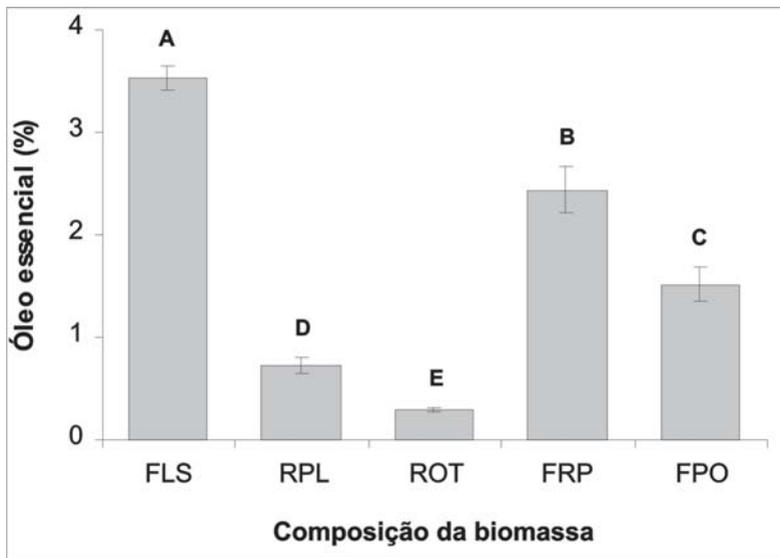
Os regimes distintos de intensidade e periodicidade de chuvas, que influenciam a umidade relativa do ar e, conseqüentemente, o teor de umidade da biomassa, não contribuiu para que ocorressem vantagens comparativas na secagem da biomassa, pois nos meses de julho a dezembro, quando há menor incidência de chuvas, não ocorreram acentuadas diferenças de teor de umidade entre as diferentes composições de biomassas, do mesmo modo ao que ocorreu entre janeiro e junho, com chuvas mais intensas e freqüentes, embora tenham sido observados picos de umidade da biomassa de ramos ortotrópicos (janeiro e junho) e de ramos plagiotrópicos (março).

A maior média de teor de umidade (18,5%) foi a registrada no mês de janeiro para a biomassa composta somente de ramos ortotrópicos, de consistência menos herbácea e que apresentou maior resistência à perda de umidade. Essa média foi 40% maior que a média experimental (11,1%).

A maior resistência à perda de umidade apresentada pela biomassa de ramos ortotrópico não se manifestou em todos os meses de avaliação, como em abril, quando apresentou o menor teor de umidade. No entanto, pôde-se perceber que houve a tendência, em diferentes meses, da umidade da biomassa ser maior quando na sua composição fazia parte o ramo ortotrópico. A folha, como componente único da biomassa, apresentou, em termos absolutos, na maioria dos meses de observações, as menores médias de teor de umidade, fato que não se repetiu em termos relativos ou quando das comparações de médias (Tukey, 5%).

A partir da Anova, observou-se diferença significativa nos rendimentos de teor de óleo essencial extraído de biomassa de diferentes composições, entre os meses de avaliação e para a interação desses fatores. O coeficiente de variação foi de 11,1%.

Os resultados médios de rendimento de óleo essencial de biomassa composta de folhas; ramos plagiotrópicos; ramos ortotrópicos; folhas e ramos finos; e folhas, ramos plagiotrópicos e ramos ortotrópicos de pimenta longa estão representados na Fig. 4.



**Fig. 4.** Rendimento médio de óleo essencial de biomassa de pimenta longa<sup>(\*)</sup> composta de folhas (FLS); ramos plagiotrópicos (RPL); ramos ortotrópicos (ROT); folhas e ramos finos (FRP); e folhas, ramos plagiotrópicos e ramos ortotrópicos (FPO).

<sup>(\*)</sup>As letras diferentes indicam que houve variação estatística de rendimento de extração de óleo essencial entre as composições de biomassa (Tukey,  $p \leq 0,05$ ;  $n = 4$ ;  $l =$  erro padrão da média).

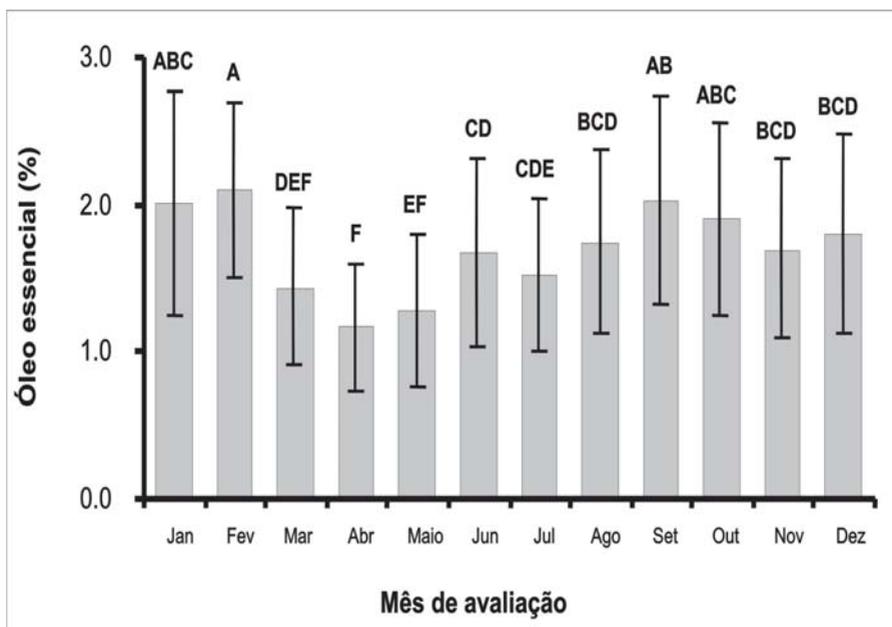
Ao serem comparados os resultados médios de óleo essencial obtidos de extrações de biomassa de pimenta longa de diferentes composições, verificou-se que os melhores rendimentos foram alcançados pelo tratamento constituído apenas de folhas, seguido do composto de folhas e ramos finos (controle). Os valores médios obtidos de rendimentos de extração de óleo essencial de biomassa de folhas de pimenta longa estão plenamente de acordo com os alcançados por Maia et al. (1993), que variaram de 3% a 4%.

As médias obtidas de rendimento de extração de óleo essencial de biomassas de folhas e de folhas mais ramos finos, de modo geral, se situaram dentro dos níveis obtidos por Lédo et al. (2001). No entanto, em observações realizadas entre abril e julho, referentes à biomassa de folhas e ramos finos, os rendimentos obtidos foram inferiores aos 2,7% mencionados por Simionatto et al (1997).

Os ramos plagiotrópicos participaram com o máximo de 20% no conteúdo total de óleo essencial no tratamento controle, pois foram baixos os rendimentos de óleo, quando obtidos de biomassa composta somente de ramos plagiotrópicos.

O mais baixo rendimento de extração de óleo essencial foi obtido pela biomassa de ramos ortotrópicos e equivaleu a apenas 8,6% do rendimento obtido, quando composta só de folha, que foi 133,3% maior que a média experimental (1,7%).

Na Fig. 5 representam-se os rendimentos médios de extração de óleo essencial de biomassa de pimenta longa ao longo dos meses (janeiro a dezembro) de avaliação.



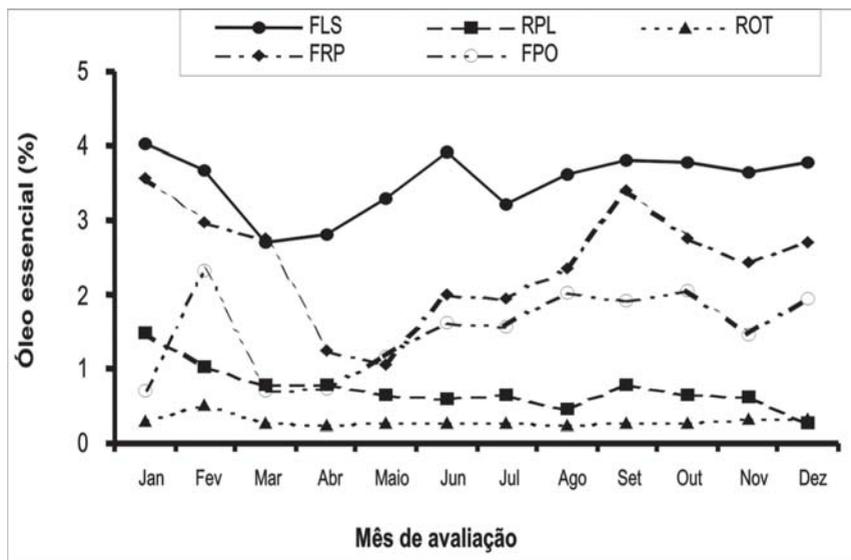
**Fig. 5.** Rendimento médio de óleo essencial de biomassa de plantas de pimenta longa<sup>(\*)</sup>, no período de janeiro a dezembro de 2002.

<sup>(\*)</sup>As mesmas letras indicam que não houve diferença estatística entre rendimento de extração de óleo essencial nos meses de avaliação experimental (Tukey,  $p \leq 0,05$ );  $n = 4$ ;  $I =$  erro padrão da média;

O maior rendimento médio mensal de extração de óleo essencial de biomassa de pimenta longa foi obtido no mês de fevereiro, estatisticamente igual aos de janeiro, setembro e outubro. Observou-se a tendência do rendimento de extração ser maior no 2º semestre, quando é sempre menor a incidência de chuvas.

Quando o rendimento médio de óleo essencial foi calculado considerando os semestres do ano, observou-se que houve ligeira superioridade do 2º semestre (1,8%) em relação ao 1º semestre (1,6%). Para tanto, contribuíram as condições de secagem à sombra no 2º semestre, quando foi menor a umidade relativa do ar. Bergo & Silva (2001) quando realizaram cortes anuais nos meses de janeiro, fevereiro, março, abril, outubro, novembro e dezembro, obtiveram médias de rendimento de óleo de 3,3%, que foram superiores às obtidas neste estudo, com plantas submetidas a cortes parciais a cada 4 meses. Quando procederam 2 cortes anuais (novembro/março; dezembro/abril e outubro/fevereiro), Bergo & Silva (2001) obtiveram rendimentos de, no máximo, 2,8%.

Na Fig. 6, estão representadas as médias de rendimento de extração de óleo essencial de biomassa de pimenta longa composta de folhas; ramos plagiotrópicos, ramos ortotrópicos; folhas e ramos finos; e folhas, ramos plagiotrópicos e ramos ortotrópicos, no período de janeiro a dezembro de 2002.



**Fig. 6.** Rendimento médio de óleo essencial extraído de biomassa de pimenta longa, composta de folhas (FLS); ramos plagiotrópicos (RPL); ramos ortotrópicos (ROT); folhas e ramos finos (FRP) e folhas, ramos plagiotrópicos e ramos ortotrópicos (FPO) no período de janeiro a dezembro de 2002.

Verificou-se que o melhor comportamento de rendimento de óleo essencial, durante os meses de observações, foi registrado para a biomassa constituída somente de folhas, exceção apenas à média registrada no mês de março, que foi inferior (-3,6%) à do controle, composta de folhas e ramos finos. Naquele tratamento, embora a maior média (4%) tenha sido registrada no mês de janeiro, houve forte tendência do rendimento de óleo essencial ser maior nos meses do 2º semestre, reconhecidamente, os mais secos do ano, principalmente, entre agosto e novembro. Essa tendência só não ficou caracterizada na biomassa de ramos ortotrópicos, cujo rendimento de óleo essencial foi praticamente constante durante todos os meses de avaliações.

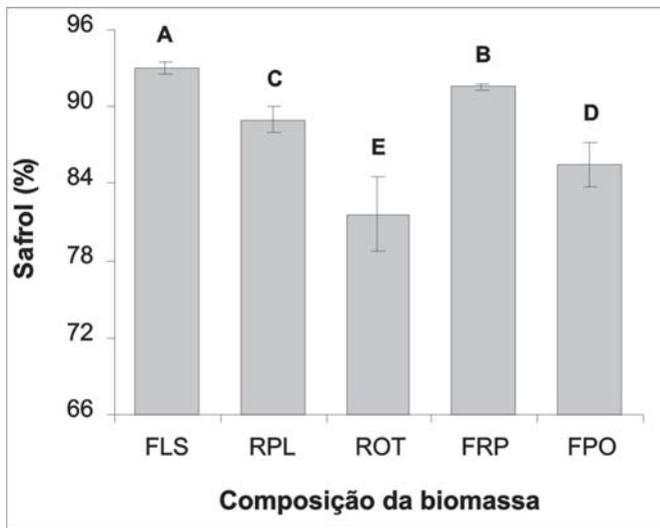
Os resultados obtidos possibilitam inferir sobre a importância das folhas na composição da biomassa, pois em misturas com ramos finos e com ramos plagiotrópicos e ortotrópicos, constituíram biomassas que quase sempre tiveram maior rendimento de óleo essencial, exceto em relação à biomassa de ramos plagiotrópicos, nos meses de janeiro, fevereiro e março.

A Anova de médias de teor de safrol, contido em óleo essencial extraído de diferentes composições de biomassa de pimenta longa, estabeleceu diferenças a 1% de significância entre os meses de avaliação experimental e a interação desses fatores. O coeficiente de variação foi de apenas 1,7%.

Na Fig. 7, representam-se as médias de teor de safrol contido em óleo essencial extraído de biomassa de pimenta longa composta de folhas; ramos plagiotrópicos; ramos ortotrópicos; folhas e ramos finos e de folhas, ramos plagiotrópicos e ramos ortotrópicos.

Quando foram comparados os resultados médios de teor de safrol contido em óleo essencial, extraído de biomassa de pimenta longa de diferentes composições, constatou-se que o melhor desempenho foi obtido pelo tratamento constituído apenas de folhas, seguido do composto de folhas e ramos finos (controle), que diferiram estatisticamente entre si. O teor médio experimental de safrol (88,1%), no entanto, foi menor em 5,3% que o obtido em óleo essencial extraído de biomassa de folhas e 3,7% do controle (folhas e ramos finos).

Os ramos plagiotrópicos, quando representaram separadamente a biomassa de pimenta longa, apresentaram teores médios de safrol inferior a 90%, taxa mínima que garante a boa aceitação comercial do produto. O pior desempenho foi registrado para o óleo essencial provindo de biomassa de ramos ortotrópicos, com pouco mais de 80%.



**Fig. 7.** Teor médio de safrol contido em óleo essencial extraído de biomassa de pimenta longa<sup>(\*)</sup> composta de folhas (FLS); ramos plagiotrópicos (RPL); ramos ortotrópicos (ROT); folhas e ramos finos (FRP); e folhas, ramos plagiotrópicos e ramos ortotrópicos (FPO).

<sup>(\*)</sup>As letras diferentes indicam que houve diferença estatística entre as composições de biomassa (Tukey,  $p \leq 0,05$ );  $n = 4$ ;  $l =$  erro padrão da média.

Neste estudo, considerando-se o teor de safrol contido em óleo essencial obtido de extração de biomassa da parte aérea de pimenta longa, que variou no de folhas de 91,5% a 95,7%, superou os teores contidos em óleos de *Illicium griffithii*, 52,4% a 53,5% (Nguyen et al. 1998); de *Talauma gioi*, 70,2% (Nguyen et al. 1997b); e de *Cinnamomum* sp., 85,9% (Nguyen et al. 1997a). Nos ramos plagiotrópicos, a variação foi de 84% a 92,9%, e se equipalou ao teor em óleo de ramos de *Cinnamomum* sp., 92,4% (Nguyen et al. 1997a). Enquanto isso, nos ramos ortotrópicos, o teor médio de safrol situou-se entre 59,4% e 90,3%, com médias maiores que a observada em óleo essencial de caule de *Cinnamomum* sp., 44,2% (Nguyen et al. 1997a); e menor que em caule de *Cinnamomum heyneanum*, 97% a 99% (Cheng et al. 1996).

Com base nas médias alcançadas, pode-se inferir que o óleo, obtido da biomassa de pimenta longa, constituída sem a participação das folhas, não teria valor comercial e a simples participação de ramos ortotrópicos provocou significativa redução desse composto químico no óleo essencial.

Na Fig. 8, estão representados os teores médios de safrol, contido em óleo essencial extraído de biomassa de pimenta longa, no período de janeiro a dezembro de 2002.

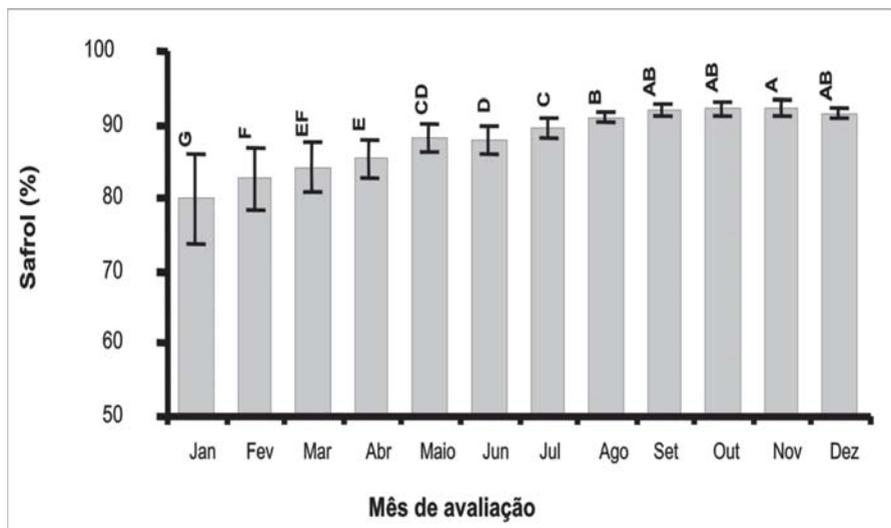


Fig. 8. Teor médio de safrol contido em óleo essencial de biomassa de plantas de pimenta longa<sup>(\*)</sup>, no período experimental de janeiro a dezembro de 2002.

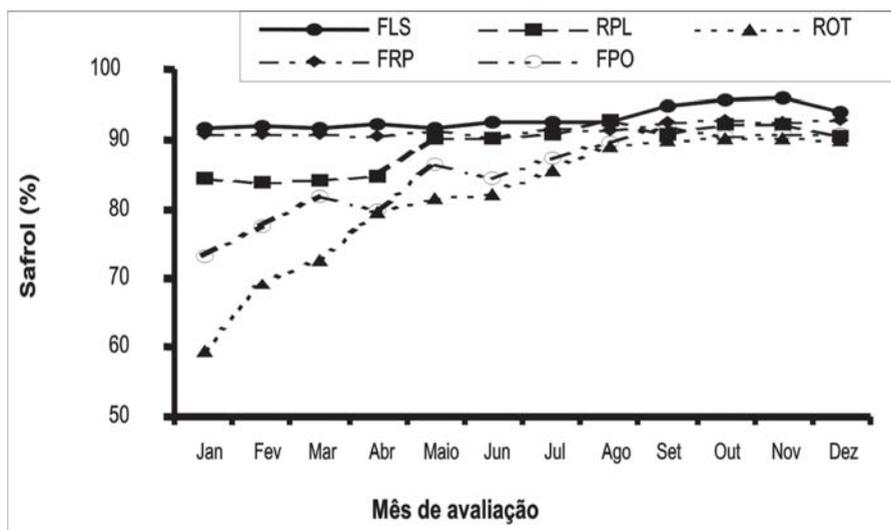
<sup>(\*)</sup>As mesmas letras indicam que não houve diferença estatística entre teores de safrol contidos no óleo essencial nos diferentes meses de avaliação (Tukey,  $p \leq 0,05$ );  $n = 4$ ; I = erro padrão da média.

Quando foi considerado o teor médio mensal de safrol contido em óleo essencial de pimenta longa, observou-se que houve diferenças significativas (Tukey, 5%) entre os tratamentos, mas a maior média alcançada em novembro não diferiu das de setembro, outubro e dezembro, as quais não foram estatisticamente superiores a agosto.

A pior performance registrada em janeiro, mês com alta incidência de chuvas, e as médias registradas até junho, possibilitam afirmar que o melhor período para a extração de óleo essencial, com vistas à obtenção de safrol, compreende o

período de julho a dezembro, quando são menores os índices de precipitação pluviométrica. As condições do ambiente de secagem, à sombra e sob ventilação, não garantiram bom nível de teor de safrol nos meses de chuvas mais intensas.

Na Fig. 9, representam-se os teores médios de safrol contido em óleo essencial de biomassa de pimenta longa composta de folhas; ramos plagiotrópicos; ramos ortotrópicos; folhas e ramos finos; e folhas, ramos plagiotrópicos e ramos ortotrópicos, ao longo do período experimental de janeiro a dezembro de 2002.



**Fig. 9.** Teor médio de safrol contido em óleo essencial extraído de biomassa de pimenta longa composta de folhas (FLS); ramos plagiotrópicos (RPL); ramos ortotrópicos (ROT); folhas e ramos finos (FRP); e folhas, ramos plagiotrópicos e ramos ortotrópicos (FPO), no período de janeiro a dezembro de 2002.

Assim como foi observado no rendimento de extração, as folhas representaram a biomassa capaz de produzir óleo essencial com os maiores teores de safrol (> 90%) em quase todos os meses de observação, exceto o de agosto, quando foi menor que o safrol contido no óleo extraído de biomassa de ramos plagiotrópicos, mas não diferiu deste estatisticamente, do mesmo modo como aconteceu nos meses de maio e julho, e nos meses de setembro, outubro e novembro, em relação ao óleo essencial proveniente de biomassa composta de folhas e ramos finos (controle).

No 2º semestre, os maiores picos de teor de safrol foram obtidos por biomassas compostas de folhas e de folhas mais ramos finos, principalmente entre setembro e novembro.

A biomassa composta de ramos ortotrópicos apresentou os mais baixos teores de safrol no óleo essencial, que só ultrapassou os 90% no mês de novembro. Quando fez parte da biomassa, em mistura com folhas e ramos plagiotrópicos, contribuiu para o registro de baixos teores de safrol contido no óleo, nos meses de janeiro a agosto (< 90%).

Os dados de índice de refração não foram submetidos à análise estatística, mas os valores registrados, no período de janeiro a maio, para o óleo extraído de biomassa de ramos ortotrópicos ficaram muito próximos ao índice de refração da água ( $\pm 1,330$ ).

Na Fig. 10, representam-se as médias de índice de refração de óleo essencial extraído de biomassa de pimenta longa constituída de folhas; ramos plagiotrópicos; ramos ortotrópicos; folhas e ramos finos; e folhas, ramos plagiotrópicos e ramos ortotrópicos.

O óleo essencial extraído de biomassa composta de folhas apresentou a maior média de índice de refração e, no entanto, variou apenas de 0,01% e 0,04%, em relação a outras biomassas em que essa fazia parte da biomassa – folhas e ramos finos; folhas, ramos plagiotrópicos e ramos ortotrópicos, respectivamente. Enquanto isso, em relação à biomassa de ramos ortotrópicos, a de menor média, a diferença entre os índices de refração foi de 4,6%.

Na Fig. 11, estão representados os valores médios de índice de refração de óleo essencial extraído de biomassa de pimenta longa, no período de janeiro a dezembro de 2002.

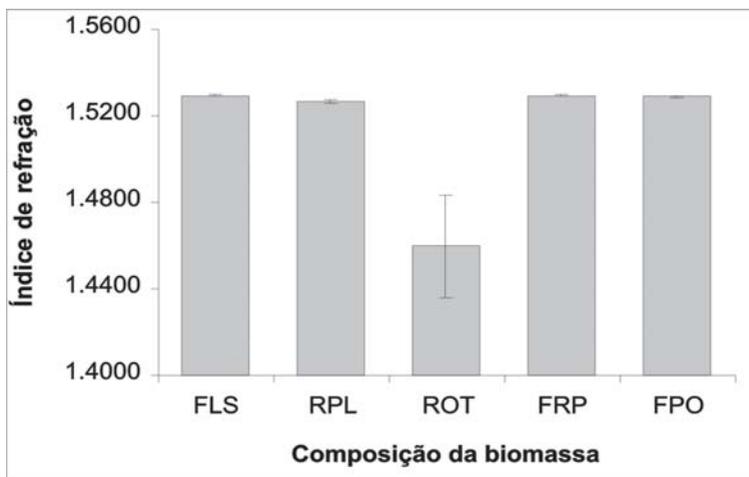


Fig. 10. Resultados médios de índice de refração de óleo essencial de biomassas de pimenta longa, compostas de folhas (FLS), ramos plagiotrópicos (RPL), ramos ortotrópicos (ROT), folhas e ramos finos (FRP) e folhas, ramos plagiotrópicos e ramos ortotrópicos (FPO). (I = erro padrão da média), medido em ambiente a  $25\text{ }^{\circ}\text{C} \pm 2\text{ }^{\circ}\text{C}$ .

(\*)As mesmas letras indicam que não houve diferença estatística de teor de umidade entre as composições de biomassa ( $n = 4$ ; I = erro padrão da média).

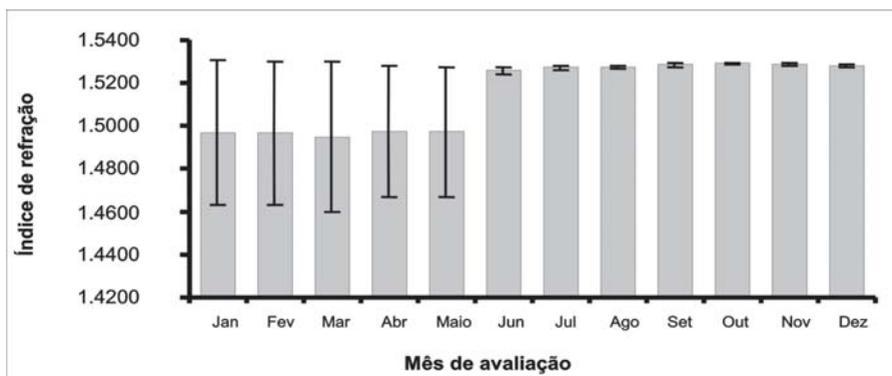


Fig. 11. Resultados médios de índice de refração de óleo essencial extraído de biomassa de plantas de pimenta longa, medido em ambiente a  $25\text{ }^{\circ}\text{C} \pm 2\text{ }^{\circ}\text{C}$ , no decorrer do período experimental de janeiro a dezembro de 2003.

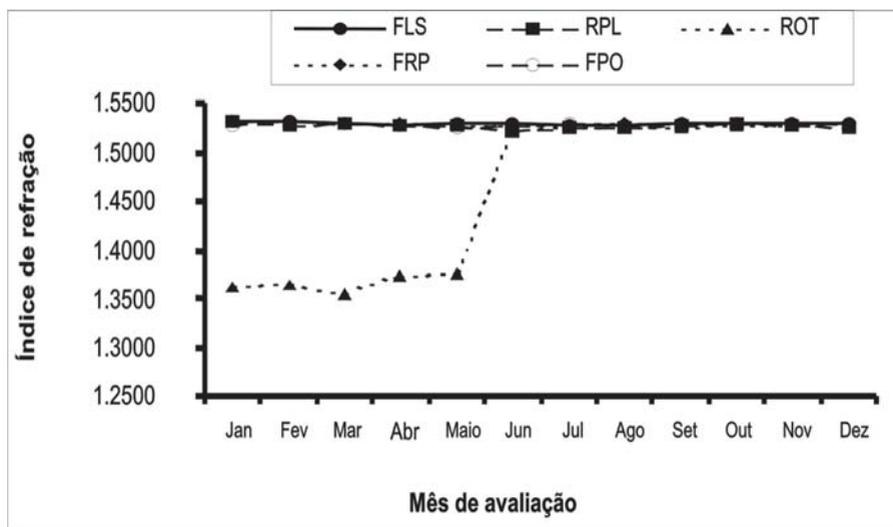
(\*)As mesmas letras indicam que não houve diferença estatística de teor de umidade entre as composições de biomassa ( $n = 4$ ;

I = erro padrão da média).

Em termos de médias mensais, o índice de refração só foi superior a 1,5200 de junho a dezembro (meses de transição entre os períodos final e inicial de maior frequência de chuvas), com o pico registrado em outubro, mês tradicionalmente com baixo índice de precipitação pluviométrica no Município de Igarapé-Açu. Esses resultados estão muito próximos daqueles obtidos por Figueirêdo & Rocha Neto (2001).

Os resultados inferiores à média experimental foram influenciados pelos baixos valores obtidos, a partir de janeiro a maio, pelo tratamento em que a biomassa era constituída apenas de ramos ortotrópicos.

Na Fig. 12, representam-se os valores médios de índice de refração de óleo essencial de biomassas de plantas de pimenta longa, composta de folhas; ramos plagiotrópicos, ramos ortotrópicos; folhas e ramos finos; e folhas, ramos plagiotrópicos e ramos ortotrópicos, cortadas nos meses de janeiro a dezembro de 2002.



**Fig. 12.** Resultados médios de índice de refração de óleo essencial extraído de biomassa de pimenta longa, composta de folhas (FLS), ramos plagiotrópicos (RPL), ramos ortotrópicos (ROT), folhas e ramos finos (FRP) e folhas, ramos plagiotrópicos e ramos ortotrópicos (FPO), medido em ambiente a  $25\text{ }^{\circ}\text{C} \pm 2\text{ }^{\circ}\text{C}$ , no período de janeiro a dezembro de 2002.

O índice de refração do óleo essencial de pimenta longa variou de 1,5205 (ramos plagiotrópicos, junho) a 1,5318 (folhas e ramos finos, janeiro). No período de janeiro a maio, os índices de refração do óleo essencial obtido de ramos ortotrópicos, variaram de 1,3617 a 1,3761, com média de 1,3676, bem menor que a média experimental de 1,5149. Descartando-se os resultados correspondentes às frações de óleos providas de ramos ortotrópicos, a média de 1,5287 teve insignificante incremento de apenas 0,9%.

Na Tabela 1, apresentam-se os resultados de correlação linear de Pearson, entre as variáveis de resposta constituídas de teor de umidade de biomassa, rendimento de extração de óleo essencial, teor de safrol e índice de refração.

**Tabela 1.** Resultados de teste de associação entre as variáveis mensuradas pelo coeficiente de correlação linear de Pearson e a matriz de correlação.

<b>Elementos</b>	<b>Um &amp; Rd</b>	<b>Um &amp; Sf</b>	<b>Um &amp; lr</b>	<b>Rd &amp; Sf</b>	<b>Rd &amp; lr</b>	<b>Sf &amp; lr</b>
<b>n (pares)</b>	5	5	5	5	5	5
<b>r (Pearson)</b>	-0,8946	-0,8820	-0,4490	0,8339	0,6175	0,7887
<b>IC 95%</b>	-0,99 a 0,06	-0,99 a 0,00	-0,95 a 0,72	-0,18 a 0,99	-0,58 a 0,97	-0,31 a 0,99
<b>IC 99%</b>	-1,00 a 0,36	-1,00 a 0,41	-0,98 a 0,87	-0,55 a 1,00	-0,80 a 0,99	-0,64 a 0,99
<b>R<sup>2</sup></b>	0,8002	0,7778	0,2016	0,6954	0,3813	0,6220
<b>T</b>	-3,4662	-3,2410	-0,8703	2,6171	1,3598	2,2218
<b>GL</b>	3	3	3	3	3	3
<b>(p)</b>	0,0404	0,0478	0,4481	0,0791	0,2670	0,1128
<b>Matriz de Correlação</b>	<b>Um</b>	<b>Rd</b>	<b>Sf</b>	<b>lr</b>		
	Um	1,0000				
	Rd	-0,8946	1,0000			
	Sf	-0,8820	0,8339	1,0000		
	lr	-0,4490	0,6175	0,7887	1,0000	

Um = umidade de biomassa; Rd = rendimento de extração de óleo essencial; Sf = teor de safrol contido no óleo essencial extraído; lr = índice de refração do óleo essencial.

Pode-se perceber que houve correlação positiva entre rendimento de extração de óleo e teor de safrol; entre rendimento de extração de óleo e índice de refração; e entre teor de safrol e índice de refração. As correlações envolvendo o teor de umidade da biomassa não foram estatisticamente significativas. Pimentel et al. 1998 também observaram correlação positiva entre rendimento de óleo e o teor de safrol.

## Conclusões

- As folhas são as principais fontes de reservas de óleo essencial de pimenta longa e as responsáveis pelos maiores rendimentos de extração e de teor de safrol.
- A biomassa aérea, composta de folhas e ramos finos, apresentou bom rendimento de óleo e bom teor de safrol, devendo continuar a ser indicada para os procedimentos de extração de óleo essencial de pimenta longa.
- Os ramos ortotrópicos não contribuem para o aumento do rendimento de extração de óleo essencial, do teor de safrol e do índice de refração.
- Os melhores rendimentos de óleo essencial e de teores de safrol são obtidos nos meses do 2<sup>o</sup> semestre, principalmente de agosto a novembro.

## Agradecimentos

Os autores deste trabalho reconhecem e agradecem a dedicação dos empregados da Embrapa Amazônia Oriental, Enilson Solano Albuquerque Silva, Fernando Lopes Shikama, Orivan Maria Marques Teixeira e Solange Branche Vilar que, seu tempo e oportunidade, executaram atividades importantes para o êxito deste estudo.

De modo especial, agradecem ao Sr. Miguel Assunção Quadros, proprietário do estabelecimento rural, na Vila de São Jorge do Jabuti, Município de Igarapé-Açu, do qual foi coletada toda a matéria-prima necessária para a realização desta pesquisa.

## Referências Bibliográficas

ALENCAR, R.; LIMA, R. A.; CORRÊA, R. G. C.; GOTTLIEB, O. R.; MARX, M. C.; SILVA, M. L.; MAIA, J. G. S.; MAGALHÃES, M. T.; ASSUMPCÃO, R. M. V. Óleos essenciais de plantas brasileiras. **Acta Amazônica**, v.1, n.3, p.41-43, 1971.

AYRES, M.; AYRES JÚNIOR, M.; AYRES, D. L.; SANTOS, A. de A. S. dos. **Bioestat 3.0** : aplicações estatísticas nas áreas das ciências biológicas e médicas. Belém: Sociedade Civil Mamirauá, 2003. 291p. Acompanha 1 CD- ROM.

BERGO, C. L.; SILVA, M. R. da. Efeito da época e da frequência de corte da pimenta longa (*P. hispidinervum*) no rendimento de óleo essencial. In: WORKSHOP DE ENCERRAMENTO DO PROJETO DE DESENVOLVIMENTO DE TECNOLOGIAS PARA A PRODUÇÃO DE SAFROL A PARTIR DE PIMENTA LONGA (*PIPER HISPIDINERVUM*), 1., 2001, Rio Branco, AC. **Anais ...** Rio Branco: Embrapa Acre; Belém,PA: Embrapa Amazônia Oriental : DFID, 2001. p. 52-56. (Embrapa Acre. Documentos, 75).

BESSIERE, J. M; MENUT, C.; LAMATY, G.; JOSEPH, H. Variations in the volatile constituents of *Peperomia rotundifolia* Schlecht. & Cham. grown on different host-trees in Guadeloupe. **Flavour and Fragrance Journal**, v.9, n.3, p.131-133, 1994.

CARLSON, M. ; THOMPSON, R. D. Liquid chromatographic determination of safrole in sassafras derived herbal products. **Journal of AOAC International**, v.80, n.5, p.1023 -1028, 1997.

CHENG, B.; XU, Y.; MA, X.; CHENG, B.Q.; XU, Y.; MA, X.X. Study on the new economic plant of safrole of *Cinnamomum heyeanum*. **Journal of Plant Resources and Environment**, v.6, n.5, p.33-37, 1996.

DUTTA, S. C. ; MATHUR, R. K.; BARUAH, A.; BARUAH, J. N. Major volatile components of *Michelia montana*. **Planta Medica**, v.53, n.5, p. 505, 1987.

ESTAT: sistema para análise estatística, versão 2.0. Jaboticabal: UNESP : FCAV, 1994. 1 disquete, 3 ½ pol.

FIGUEIRÊDO, F.J.C.; ROCHA NETO, O.G. da. Estudos comparativos de plantas de pimenta longa (*Piper hispidinervium* C. DC.), de aspectos vegetativos extremos, para a extração de óleo essencial e quantificação de safrol. In: WORKSHOP DE ENCERRAMENTO DO PROJETO DE DESENVOLVIMENTO DE TECNOLOGIAS PARA PRODUÇÃO DE SAFROL A PARTIR DE PIMENTA LONGA (*Piper hispidinervium*), 1., 2001, Rio Branco, AC. **Anais ... Rio Branco: Embrapa Acre; Belém: Embrapa Amazônia Oriental : DFID, 2001. p.74-79.** (Embrapa Acre. Documentos, 75).

GRIFFIN, S. G.; LEACH, D. N. ; MARKHAM, J.; JOHNSTONE, R. Antimicrobial activity of essential oils from *Zieria*. **Journal of Essential Oil Research**, v.10, n.2, p.165 -174, 1998.

GURIB, F. A. Constituents of the essential oils from *Piper sylvestre* growing in Mauritius. **Planta Medica**, v.60, n.4, p. 376 - 377, 1994.

KOUNO, I.; YANAGIDA, Y.; SHIMONO, S.; SHINTOMI, M; YANG, C. S. Phenylpropanoids from the barks of *Illicium difengpi*. **Chemical and Pharmaceutical Bulletin**, v.40, n.9, p. 2461-2464, 1992.

LÉDO, F. J. da S.; MENDONÇA, H. A. de; SOUSA, J. A. de. Seleção de progênies de polinização aberta e estimativas e parâmetros genéticos em pimenta longa (*Piper hispidinervium* C.DC.). In: WORKSHOP DE ENCERRAMENTO DO PROJETO DE DESENVOLVIMENTO DE TECNOLOGIAS PARA A PRODUÇÃO DE SAFROL A PARTIR DE PIMENTA LONGA (*PIPER HISPIDINERVUM*), 1., 2001, Rio Branco, AC. **Anais ... Rio Branco: Embrapa Acre; Belém: Embrapa Amazônia Oriental : DFID, 2001. p.22-27.** (Embrapa Acre. Documentos, 75).

MAIA, J. G. S.; GREEN, C. L.; MILCHARD, M. L. New sources of natural safrole. **Perfumer and Flavorist International**, v.18, p.19 -22, 1993.

MAIA, J. G. S.; SILVA, M. H. L. **Relatório técnico do projeto "Potencial econômico das plantas aromáticas do Estado do Pará"**: Cooperação técnica Brasil-Reino Unido (ODA). Belém: MPEG, 1995. 48p.

MAIA, J. G.; SILVA, M. L.; LUZ, A. I. R.; ZOGHBI, M. G. B.; RAMOS, L. S. Espécies de *Piper* da Amazônia ricas em safrol. **Química Nova**, v.10, n.3, p. 200 -204, 1987.

MIRANDA, E. M. de. Caracterização e avaliação produtiva de uma população nativa de pimenta longa (*Piper hispidinervum* C.DC.) no Seringal Cachoeira, AC. In: WORKSHOP DE ENCERRAMENTO DO PROJETO DE DESENVOLVIMENTO DE TECNOLOGIAS PARA A PRODUÇÃO DE SAFROL A PARTIR DE PIMENTA LONGA (*PIPER HISPIDINERVUM*). (1. 2001: Rio Branco, AC). **Anais ...** Rio Branco: Embrapa Acre; Belém: Embrapa Amazônia Oriental : DFID, 2001. p.45-50. (Embrapa Acre. Documentos, 75).

NGUYEN, T. T.; HA; L. A.; BIGHELLI, A.; CASANOVA, J. Identification of the components of *Illicium griffithii* Hook. & Thomas. essential oil from Vietnam using carbon 13 NMR spectroscopy. **Journal of Essential Oil Research**, v.10, n.4, p.433-435, 1998.

NGUYEN, X. D.; NGUYEN, T. T.; PHAM, V. K.; NGUYEN, T. Q.; HOANG, T. L.; LECLERCQ, P.A. Characterization of the oils from various parts of *Talauma gioi* Aug. Chev. (Magnoliaceae) from Vietnam. **Journal of Essential Oil Research**, v.9, n.1, p.119-121, 1997a.

NGUYEN, X. D.; PHAM, V. K.; NGUYEN, T. Q. V.; HOANG, T. L.; VEN, L. J. M. VAN DE; LECLERCQ, P. A. ; VAN DE VEN L. J. M. 2-Methylene-3-buten-1-yl benzoate: the major constituent of the leaf, stem and wood oils from "Re Gung," a Vietnamese *Cinnamomum* sp. tree. **Journal of Essential Oil Research**, v.9, n.1, p.57-61, 1997b.

PIMENTEL, F. A., PEREIRA, J. B. M.; OLIVEIRA M. N. de. **Zoneamento e caracterização de habitats naturais de pimenta longa (*Piper hispidinervium*) no Acre**. Rio Branco: Embrapa - CPAF Acre, 1998. 17p. (Embrapa – CPAF Acre. Boletim de Pesquisa, 20).

SANTOS, A. S.; ALVES, S. de M.; BAKER, D.; ROCHA NETO, O. **Descrição de sistema e métodos de extração de óleos essenciais e determinação de umidade de biomassa em laboratório**. Belém: Embrapa Amazônia Oriental, 2004. 6p. (Embrapa Amazônia Oriental. Comunicado Técnico, 99)

SANTOS, A.S.; FIGUEIRÊDO, F.J.C.; ALVES, S. de M.; ROCHA NETO, O.G. da. **Métodos práticos de secagem de biomassa de plantas de pimenta longa (*Piper hispidinervium* C.DC.) para a produção de safrol.** In: WORKSHOP DE ENCERRAMENTO DO PROJETO DE DESENVOLVIMENTO DE TECNOLOGIAS PARA PRODUÇÃO DE SAFROL A PARTIR DE PIMENTA LONGA (*Piper hispidinervium*), 1., 2001, Rio Branco, AC. **Anais ...** Rio Branco: Embrapa Acre; Belém: Embrapa Amazônia Oriental : DFID, 2001b. p.140-146. (Embrapa Acre. Documentos, 75).

SILVA, M. H. L. **Tecnologia de cultivo e produção racional de pimenta longa, *Piper hispidinervium* C.DC.** 1993. 120p. Dissertação (Mestrado em Fitotecnia) - Universidade Federal do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro.

SIMIONATTO, E. L.; REBELO, R.; RAMOS, M. G.; ZANETE, V. C. **Fontes alternativas de safrol – propagação da pimenta longa pela técnica de estaquia.** FNMA, processo N° 1.668/92, referente ao convênio N° 058/95. 1997.

XU, H. H.; ZHAO, S. H.; XU, H. H.; ZHAO, S. H. Studies on insecticidal activity of the essential oil from *Cinnamomum micranthum* and its bioactive component. **Journal of South China Agricultural University**, v.17, n.1, v.10-17, 1996.

**Embrapa**

***Amazônia Oriental***

CGPE 4961

Patrocínio:



MINISTÉRIO DA AGRICULTURA,  
PECUÁRIA E ABASTECIMENTO

