

FRANCELI DA SILVA

**ÓLEO ESSENCIAL E CONSERVAÇÃO PÓS-COLHEITA DE
MANJERICÃO (*Ocimum basilicum* L.) EM DOIS HORÁRIOS E DUAS
ÉPOCAS DE COLHEITA**

Tese apresentada à Universidade Federal de Viçosa, como parte das exigências do Programa de Pós-Graduação em Fitotecnia, para obtenção do título de *Magister Scientiae*.

VIÇOSA
MINAS GERAIS - BRASIL
2000

A todos aqueles que, com ética e respeito, dedicam-se ao estudo das plantas medicinais e contribuem para o bem da humanidade.

“O saber não está armazenado em um só lugar, mas disperso por toda a superfície da Terra”

Paracelsus (1493-1541 d.C.)

AGRADECIMENTOS

A Deus, pelo meu crescimento profissional e humano.

Às plantas medicinais, em especial ao manjeriço, por fazerem parte desta pesquisa.

Aos meus pais Francisco e Celina, por estarem sempre ao meu lado em todos os momentos da minha vida.

Ao meu irmão Froébio, pelo constante incentivo, apoio e carinho.

Ao Roberto Soriano de Amorim, pela compreensão, pela paciência e pelo amor ao longo dos anos.

À Universidade Federal de Viçosa, pela oportunidade de realização deste trabalho.

À Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES), pela concessão da bolsa de estudo.

Ao Professor Ricardo Henrique Silva Santos, pela orientação profissional, pela dedicação, pelos conselhos no decorrer do curso e pela amizade.

Ao Professor Vicente Wagner Dias Casali, por estar sempre ao meu lado, por sua amizade, pelos conselhos, pelas valiosas contribuições e, principalmente, por acreditar em mim.

Aos Professores Nélio José de Andrade, Luiz Cláudio de Almeida Barbosa, Renato Ribeiro Lima, Ernane Ronie Martins, Fernando Luiz Finger,

José Demuner e Evandro Nascimento, pelos conhecimentos transmitidos, pela dedicação e pela amizade.

Ao botânico R. M. Rarley, pela identificação do material de estudo.

À Dr. Ana Eugênia de Carvalho Campos-Farinha, do Instituto Biológico de São Paulo, pela amizade, pelo apoio e pelo incentivo em todos os momentos.

Aos meus amigos dos grupos de estudo Eliane, Bira, Rose, Patrícia, Livy, Cristina, Fernanda, Adriano, Ricardo e Francisco, pela dedicação e amizade.

Ao Grupo Entre Folhas - Plantas Medicinais e a todos os seus membros pela amizade, pelo apoio e pelo incentivo durante estes anos.

Ao seu Vicente Rosado, José, Ribeiro, Sabino, Carlinhos, Ricardo e Antônio, pela dedicação, compreensão e colaboração.

Aos meus amigos do Laboratório de Síntese de Agroquímicos, Laboratório de Homeopatia, Laboratório de Pós-Colheita, Laboratório de Microbiologia e Higiêne Industrial e Laboratório de Enzimologia pela convivência harmoniosa.

Em especial, a Cintia Armond, Viviane, Lídia, Maria Regina e Daniela, pela amizade, pelo incentivo e pela ajuda na condução dos trabalhos.

À tia Terezinha, pelos ensinamentos, pelo respeito, pelo companheirismo e pela amizade.

A Irany e Juliane, pelo convívio agradável, pelo apoio, pelo incentivo e pela amizade.

Aos meus amigos Alexandre, Reginalda e Cintia, pela força nos momentos difíceis, pelo apoio e pela amizade.

A todos que, direta ou indiretamente, colaboraram, de forma positiva, na realização deste trabalho.

BIOGRAFIA

FRANCELI DA SILVA, filha de Francisco Pereira da Silva e Celina Ribeiro da Silva, nasceu em Osasco, São Paulo, em 16 de março de 1973.

Em outubro de 1998, gradou-se em Engenharia Agrônômica pela Universidade Federal de Viçosa (UFV), em Viçosa, MG. Em 1998, nessa mesma Universidade, deu início ao Curso de Mestrado em Fitotecnia, na área de Plantas Medicinais, Condimentares, Aromáticas e Homeopatia.

Desde 1993, é membro atuante do Grupo Entre Folhas - Plantas Medicinais.

Em janeiro de 2000, participou como co-autora do livro “Pós-Colheita e Óleos Essenciais de Plantas Medicinais e Aromáticas”, pelo Departamento de Fitotecnia, sendo este o quarto volume da série “Plantas Medicinais e Aromáticas”.

CONTEÚDO

RESUMO	ix
ABSTRACT	xi
INTRODUÇÃO GERAL	1
CAPÍTULO 1 – ÓLEO ESSENCIAL DE MANJERICÃO (<i>Ocimum basilicum</i> L.) EM DOIS HORÁRIOS E DUAS ÉPOCAS DE COLHEITA	
1. INTRODUÇÃO	3
2. REVISÃO DE LITERATURA	5
2.1. Diversidade e distribuição do gênero <i>Ocimum</i>	5
2.2. Metabólitos secundários	7
2.3. Óleos essenciais	11
2.3.1. Importância econômica dos óleos essenciais	13
2.4. Fatores que influenciam a produção e a variabilidade de óleos essenciais	14
2.5. Extração de óleos essenciais	18
2.6. Análise dos óleos essenciais	19
3. MATERIAL E MÉTODOS	21
3.1. Material experimental	21
3.1.1. <i>Ocimum basilicum</i> L.	21
3.2. Obtenção das mudas, instalação e condução do experimento.....	23
3.2.1. Obtenção das mudas	23

3.2.2. Instalação do experimento	23
3.2.3. Manejo da cultura	24
3.3. Delineamento experimental	24
3.4. Coleta e preparo das amostras	24
3.5. Extração de óleo essencial	25
3.6. Análises químicas	27
3.6.1. Cromatografia em fase gasosa	27
3.6.2. Cromatografia em fase gasosa e espectrometria de massas	27
4. RESULTADOS E DISCUSSÃO	28
4.1. Teor de óleo essencial	28
4.2. Análise cromatográfica do óleo essencial	33
5. CONCLUSÕES	40
 CAPÍTULO 2 – CONSERVAÇÃO PÓS-COLHEITA DE MANJERICÃO (<i>Ocimum basilicum</i> L.)	
1. INTRODUÇÃO	41
2. REVISÃO DE LITERATURA	43
2.1. Aspectos gerais da pós-colheita	43
2.2. Qualidade microbiológica	46
3. MATERIAI E MÉTODOS	49
3.1. Material experimental e condução do cultivo no campo	49
3.2. Coleta e preparo das amostras	49
3.3. Avaliação da degradação de clorofila	50
3.4. Avaliação visual	51
3.5. Avaliação microbiológica	51
3.5.1. Fungos, bolores e leveduras	52
3.5.2. Coliformes totais e fecais	52
3.5.3. <i>Staphylococcus aureus</i>	53
3.6. Extração de óleo essencial	53
3.6.1. Análises químicas	53
3.7. Delineamento experimental	53
3.8. Análise da avaliação microbiológica	54

4. RESULTADOS E DISCUSÃO	55
4.1. Teor de óleo essencial, clorofila e análise visual	55
4.2. Avaliação microbiológica	60
5. CONCLUSÕES	65
RESUMO E CONCLUSÕES	66
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	68
ANEXOS	77

RESUMO

SILVA, Franceli. MS, Universidade Federal de Viçosa, outubro de 2000. **Óleo essencial e conservação pós-colheita de manjeriço (*Ocimum basilicum* L.) em dois horários e duas épocas de colheita.** Orientador: Ricardo Henrique Silva Santos. Conselheiros: Vicente Wagner Dias Casali e Luiz Cláudio de Almeida Barbosa.

Visando maximizar a produção de óleo essencial e a conservação pós-colheita de *Ocimum basilicum* L., por meio do conhecimento dos fatores ambientais que influenciam a produção e conservação pós-colheita das espécies medicinais, estudou-se o teor, a composição química do óleo essencial e conservação pós-colheita de *Ocimum basilicum* L., colhido em duas épocas do ano e em dois horários.

Os estudos foram conduzidos na Universidade Federal de Viçosa, Viçosa/MG, no período de abril/99 a janeiro/00. A espécie foi propagada vegetativamente, a partir de uma planta matriz, com posterior transplante no Horto Medicinal. As colheitas foram realizadas nos meses de agosto/99 e janeiro/00, às 8:00 e 16:00h. O teor de óleo essencial foi expresso com base na matéria seca e extraído pelo método de arraste a vapor. Na determinação da composição química do óleo, utilizou-se cromatografia gasosa acoplada a espectrometria de massas (CG/EM). Verificou-se que o teor de óleo essencial foi influenciado conjuntamente pela época e horário de colheita, sendo o mês de janeiro/00, no período da manhã, superior ao mês de agosto/99. No entanto, não se observou mudança considerável no perfil cromatográfico nas duas épocas e

horários de colheita, sendo os constituintes majoritários o eugenol e o linalol. Nas avaliações de conservação pós-colheita, avaliou-se o teor de clorofila, os aspectos visuais, contaminação microbiológica e determinou-se o teor e a composição do óleo. As amostras foram embaladas em caixas de PVC e armazenadas em câmara fria, sendo avaliadas de três em três dias até nove dias. Verificou-se que o teor de óleo essencial na pós-colheita foi influenciado pela época de colheita e pelos dias de armazenamento do produto, não havendo efeito dos horários de colheita. Independente do mês de colheita, as plantas apresentaram redução no teor de clorofila com o passar dos dias de armazenamento, o mesmo ocorrendo para o teor de óleo essencial. No entanto, na análise visual as plantas obtiveram notas que indicaram bom padrão para a comercialização do produto. A avaliação microbiológica sugere que os cuidados de higiene do produto são fundamentais na obtenção de produtos de qualidade, ficando dentro dos padrões em coliformes totais, fecais e *Staphylococcus aureus*. A contaminação por fungos, bolores e leveduras foi reduzida com o passar dos dias de armazenamento. Os resultados demonstram que o teor de óleo essencial reflete uma resposta fisiológica à variação ambiental, e que as características do produto podem ser preservadas. Entretanto, sua utilização terapêutica pode ficar comprometida, devido a redução no teor de óleo essencial com os dias de armazenamento.

ABSTRACT

SILVA, Franceli. MS, Universidade Federal de Viçosa, October, 2000. **Essential oil and post-harvest preservation of basil (*Ocimum basilicum L.*) at two different hours in the day and two harvesting times.** Adviser: Ricardo Henrique Silva Santos. Committee Members: Vicente Wagner Dias Casali and Luiz Cláudio de Almeida Barbosa.

With the objective of maximizing essential oil production and post-harvest preservation, through the knowledge of environmental factors which influence yield and post-harvest preservation of medicinal species, level and chemical composition of the essential oil and post-harvest preservation of *Ocimum basilicum L.*, picked at two harvesting times and at two different hours in the day, were studied. The studies were conducted at the Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, MG, from April/99 to January/00. The species was asexually propagated, starting from a main plant, with subsequent transplanting at the Medicinal Plant Garden. Harvests were carried out in August/99 and January/00, at 8:00 AM and 4:00 PM. Level of essential oil was based on the dry matter and it was extracted via the vapor dragging method. Gas chromatography coupled with mass spectrometry (GC/MS) were used to determine oil chemical composition. It was verified that the level of essential oil was influenced by both the harvest-time in the year and the hour in the day, being this level in January/00, in the morning, superior to the one in August/99. However, no considerable change was

observed in the chromatographic profile for the two harvesting times and hours, being eugenol and linalol the major constituents. In the post-harvesting analysis, chlorophyll level, visual aspects and microbiological contamination were evaluated, and oil level and composition were determined. Samples were packed in PVC boxes and stored in a chilling chamber, being evaluated every three days up to complete nine days. It was verified that the level of essential oil at post-harvesting was influenced by harvest-time and produce storage time, with no effect of harvest hours. Irrespective of the harvest-month, plants showed reduction of chlorophyll level along the storage time, with the same occurring relation to the level of essential oil. However, in the visual analysis, plants obtained scores indicating a good pattern for produce commercialization. The microbiological evaluation indicated that produce hygienic conditions are crucial to obtain quality essential oil, standing within the patterns in relation to total and fecal coliforms and *Staphylococcus aureus*. Contamination by fungi, mould and yeast was reduced along the storage time. The results indicated that the level of essential oil reflects a physiological response to environmental variation and that the produce characteristics can be preserved. However, the therapeutic use can be impaired due to the reduction of the essential oil level along the storage time.

INTRODUÇÃO GERAL

Considerando o valor das plantas medicinais não apenas como terapêutico, mas também como fonte de recursos econômicos, torna-se importante estabelecer linhas de ação voltadas ao desenvolvimento de técnicas de manejo, cultivo e beneficiamento pós-colheita, tendo em vista a utilização dessas espécies vegetais pelo ser humano, aliada à manutenção do equilíbrio dos ecossistemas tropicais.

Segundo a Organização Mundial da Saúde, “planta medicinal é qualquer planta que possui em um dos seus órgãos ou em toda a planta substâncias com propriedades terapêuticas ou que seja ponto de partida na síntese de produtos químicos ou farmacêuticos”.

No Brasil, 20% da população é responsável por 63% do consumo dos medicamentos disponíveis; o restante encontra-se nos produtos de origem natural, especialmente nas plantas medicinais, a única fonte de recursos terapêuticos (DI STASI,1996).

ALMASSY JÚNIOR (2000) citou que existem, atualmente, mais de 2.000 programas governamentais de adoção da fitoterapia no atendimento aos usuários do Sistema Único de Saúde (SUS). Dessa maneira, os processos referentes à cadeia produtiva tornam-se de extrema importância, pois influenciam diretamente a qualidade e a quantidade de princípios ativos do produto a ser comercializado. Entretanto, as dificuldades com relação às

plantas medicinais já se iniciam na classificação botânica, pois são muitas as subespécies e variedades, e algumas não conseguem ser corretamente identificadas. Um exemplo é o gênero *Ocimum*, pois alguns autores têm relatado que existem cerca de 160 espécies e centenas de variedades, tal a facilidade de cruzamento entre suas espécies.

O *Ocimum basilicum* L., manjeriço, é originário do norte da África e da Índia e utilizado tanto como espécie medicinal como hortaliça folhosa, sendo, assim como a maioria das espécies do gênero *Ocimum*, recomendado como estimulante, digestivo, antiespasmódico, antisséptico e béquico. A maioria das suas propriedades advém do seu óleo essencial, cujos constituintes principais são eugenol, timol, estragol, metilchavicol, linalol e cânfora (MARTINS et al., 1994).

O teor de óleo essencial e, portanto, as propriedades terapêuticas e condimentares podem sofrer alterações decorrentes de diversos fatores, como: método de secagem, tratamento pós-colheita, época do ano, horário de colheita e local de cultivo (SILVA e CASALI, 2000; HALVA et al., 1988; NYKANEN, 1989; RANDHAWA e SINGH, 1991; CANTWELL e REID, 1994; CURT et al., 1993), refletindo o efeito do meio e dos processos de pós-colheita sobre a produção dos fármacos (CORREA JÚNIOR et al., 1994; MARTINS et al., 1994).

Visando contribuir com informações que possam promover o manejo mais adequado de cultivo, colheita e beneficiamento pós-colheita de *Ocimum basilicum*, o objetivo do presente trabalho foi avaliar:

- A variação do teor e da composição do óleo essencial de *Ocimum basilicum* L. em duas épocas e dois horários de colheita, bem como a conservação pós-colheita da espécie.

CAPÍTULO 1

ÓLEO ESSENCIAL DE MANJERICÃO (*Ocimum basilicum* L.) EM DOIS HORÁRIOS E DUAS ÉPOCAS DE COLHEITA

1. INTRODUÇÃO

O monitoramento dos princípios ativos e o estudo dos fatores envolvidos na variação dos teores desses compostos são fundamentais nas recomendações de manejo do ambiente, otimizando a produção e a conservação desses compostos químicos (CASTELLANI, 1997).

Os princípios ativos são grupos ou classes de substâncias que conferem ação terapêutica às plantas medicinais. No caso do *Ocimum basilicum*, conhecido popularmente como manjericão, o grupo de substâncias de importância, com finalidades terapêutica, condimentar e econômica, é o óleo essencial.

Estima-se que 3% da produção mundial de óleo essencial é usada pela indústria farmacêutica, 34% pela indústria de bebidas e o restante pelas indústrias alimentícia e de perfumaria, para dar fragrância e aroma aos produtos (BASER, 1999).

A produção de óleo essencial no mundo é estimada por volta de 45-50 mil toneladas, atingindo valores de U\$1 bilhão anuais. Alguns países têm grande potencial de produção de óleos essenciais, dentre os quais se destaca o Brasil, que se inclui entre os sete países responsáveis por 85% da produção mundial desse produto (VERLET,1993).

As espécies do gênero *Ocimum*, como *O. basilicum*, *O. sanctum* e *O. gratissimum*, têm grande demanda, em razão de o seu óleo essencial apresentar diversos constituintes de interesse largamente utilizados pelas indústrias. Nas agroindústrias há crescente utilização do óleo essencial na fabricação de molhos, embutidos, congelados e outros (GUPTA, 1994), e as perspectivas comerciais de utilização dos óleos essenciais são excelentes, diante das restrições ao uso de aromatizantes artificiais (NOLASCO,1996). Outras indústrias utilizam os óleos essenciais na aromatização de cremes dentais e de outros produtos (GUPTA,1994). Na indústria farmacêutica, o eugenol, encontrado no óleo essencial de *Ocimum basilicum* L., possui ação anestésica local em medicação odontológica (CRAVEIRO et al.,1981). De acordo com OLIVEIRA et al. (1978), o eugenol em estudo farmacológico apresentou, também, efeito depressor sobre o sistema nervoso central, provocando sonolência e estado de inconsciência.

Na medicina tradicional, as espécies de manjeriço têm sido utilizadas como estimulante digestivo, antiespasmódico, gástrico, galactagogo, béquico, anti-reumático, antisséptico e carminativo (MARTINS et al., 1994), dentre outras atribuições, tendo sua indicação preferencial de acordo com cada região (KAMADA, 1998).

Nesse contexto, o presente trabalho foi desenvolvido com o objetivo de verificar a variação do teor e da composição química do óleo essencial de *Ocimum basilicum* L., em duas épocas e dois horários de colheita.

2. REVISÃO DE LITERATURA

2.1. Diversidade e distribuição do gênero *Ocimum*

As espécies do gênero *Ocimum* são, em sua maioria, disseminadas no Brasil. São plantas conhecidas popularmente como manjeriço ou alfavacas (KAMADA, 1998; MARTINS et al., 1994; JORGE et al., 1992) e pertencem à família Lamiaceae. O gênero envolve cerca de 160 espécies, distribuídas em regiões tropicais e subtropicais da África, Ásia e América do Sul (GUPTA, 1994).

O manjeriço possui a seguinte classificação taxonômica:

Divisão: Angiospermae

Classe: Dicotyledonea

Família: Lamiaceae

Gênero: *Ocimum*

Espécie: *Ocimum basilicum*, estudada neste trabalho (Figura 1).

No Brasil, presume-se a existência de 11 espécies, e a folhagem é a parte econômica, possuindo tricomas glandulares, onde ocorrem a síntese e o armazenamento do óleo essencial (GUPTA, 1994). A planta é perene e chega a 1 m de altura, tendo folhas largas e aromáticas, com flores brancas e róseas.



Figura 1 - Ilustração do manjericão (*Ocimum basilicum* L.).

O nome vem do grego “Basilikon” e quer dizer “real”, ou “régia”. Supõe-se que na antigüidade a planta tenha sido utilizada no preparo de um bálsamo curativo exclusivamente real. Na Índia, a planta é consagrada a Krishna e Vishnu. Sua essência floral, *Basilicum*, é utilizada nos estados de melancolia e fixação mental obsessiva (SILVA e MARQUES, 1997). É costume colocar ramos dessa erva nas gavetas e nos armários, perfumando-os e repelindo insetos.

2.2. Metabólitos secundários

A composição das espécies está longe de ser descrita quimicamente em sua totalidade. Enorme arsenal de constituintes naturais ainda não foi quimicamente estudado, e grande quantidade de compostos, já isolados e com estrutura química determinada, ainda não tem a atividade biológica determinada, seja com relação às suas funções na própria espécie, seja quanto às suas potencialidades de uso, especialmente o terapêutico.

Os compostos químicos presentes no organismo vivo são sintetizados e degradados por inúmeras reações anabólicas e catabólicas, mediadas por enzimas, e esse complexo sistema de reações químicas constitui o metabolismo dos organismos. Todos os organismos possuem caminhos metabólicos semelhantes de produção de compostos essenciais à sobrevivência, como: açúcares, aminoácidos, ácidos graxos, nucleotídeos e seus polímeros derivados (polissacarídeos, proteínas, lipídios, RNA, DNA etc.). Esse caminho é o primário, sendo esses compostos os metabólitos primários (ANDRADE e CASALI, 1999; TAIZ e ZEIGER, 1998).

Alguns vegetais, microrganismos e, em menor escala, animais, entretanto, apresentam o arsenal metabólico (enzimas, coenzimas e organelas) capaz de produzir, transformar e acumular inúmeras outras substâncias.

As rotas bioquímicas e o metabolismo correspondente são específicos e únicos, caracterizando-se como elementos de diferenciação e

especialização da espécie (WINK, 1990). Esse conjunto metabólico costuma-se definir como metabolismo secundário, cujos produtos, embora não necessariamente essenciais ao organismo produtor, garantem vantagens na sua sobrevivência e perpetuação da espécie, em seu ecossistema (SANTOS, 1999).

A definição apresentada por GOTTLIEB et al. (1987) apenas diferencia os metabólitos primários como os fornecedores de matéria-prima e de energia para formação dos metabólitos secundários, designados, por estes autores, como “especiais”.

Segundo MARTINS et al. (1994), os metabólitos secundários são expressões da individualidade química dos indivíduos e diferem, qualitativa e quantitativamente, de espécie para espécie, sendo produzidos em pequenas quantidades.

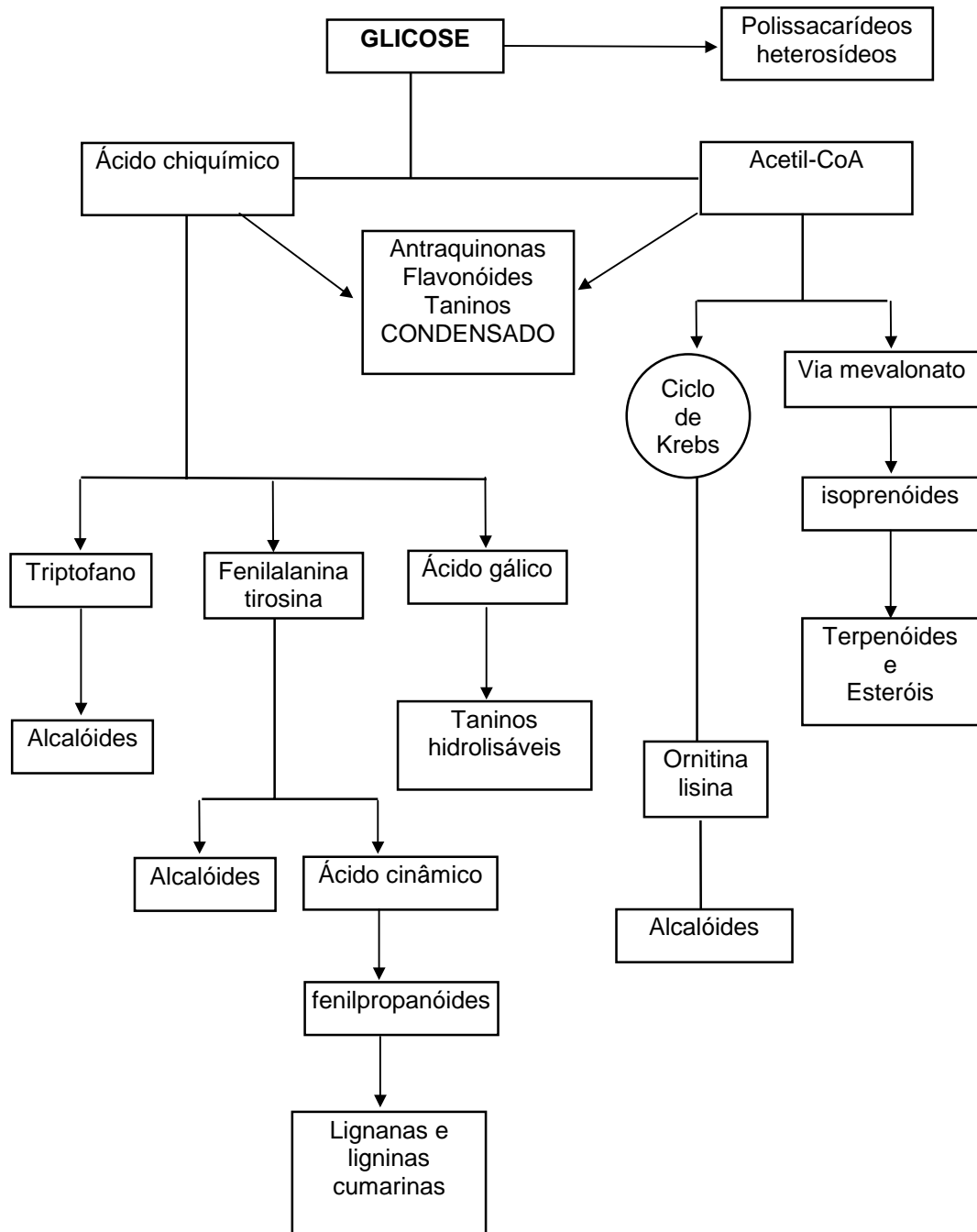
O aparecimento de metabólitos biologicamente ativos na natureza, segundo SANTOS (1999), é determinado por necessidades ecológicas e possibilidades biossintéticas; a co-evolução de plantas, insetos e microrganismos conduz à síntese de metabólitos secundários com funções de defesa ou atração, principalmente.

De acordo com TAIZ e ZEIGER (1998), os metabólitos secundários podem ser divididos em três grupos principais: terpenóides, compostos fenólicos e compostos nitrogenados. Os terpenóides são sintetizados a partir do acetil CoA, via rota do ácido mevalônico. Os compostos fenólicos são substâncias aromáticas formadas via rota do ácido chiquímico ou ácido acético. Os compostos nitrogenados, como alcalóides, são sintetizados a partir de aminoácidos (SANTOS, 1999) (Figura 2).

O metabolismo do acetil-CoA gera o diversificado grupo de metabólitos secundários, os isoprenóides ou terpenóides (MANN, 1987), que representam a segunda classe com maior número de constituintes ativos, na qual se encontram os óleos essenciais.

Os componentes que se encontram em maiores concentrações nos óleos essenciais são importantes na caracterização das propriedades do óleo essencial e na identificação das raças químicas. Componentes minoritários também apresentam significativa importância, sendo

normalmente produzidos no final das rotas metabólicas (WATERMAN, 1993).



Adaptado de SANTOS (1999)

Figura 2 - Ciclo biossintético dos metabólitos secundários.

Os principais terpenóides encontrados nos óleos essenciais podem ser divididos em monoterpenos e sesquiterpenos (LOPES, 1997). Os terpenóides são constituídos de unidades de cinco carbonos (unidades de isopreno), e a nomenclatura e as classificações refletem o número de unidades de isoprenos presentes e as formas de ciclização, apresentando diversos esqueletos cíclicos ou não. Os monoterpenos constituem uma classe simples de isoprenóides com estrutura de 10 carbonos, constituída de duas unidades de isopreno, sendo componentes de óleos essenciais, e particularmente se acumulam em certas Umbelliferae e Pinaceae. Constituem a subclasse, que inclui compostos muito comuns, como citral, linalol, cânfora e carvacrol, dentre outros de ampla utilização na indústria de cosméticos e alimentícia, além de apresentarem importantes propriedades farmacológicas.

Mais de 100 esqueletos de sesquiterpenos são conhecidos e encontrados em plantas, musgos, fungos e algas. Geralmente, ocorrem juntamente com monoterpenos em óleos essenciais, mas em quantidades menores, cuja acumulação nas plantas superiores se dá em estruturas secretoras especializadas, as glândulas de óleo. Em geral, são menos voláteis e têm propriedades menos importantes do que os monoterpenos, no entanto podem influenciar delicadamente o odor dos óleos onde ocorrem (WATERMAN, 1993).

Os fenilpropenos são derivados da rota metabólica do ácido chiquímico. Apresentam estruturas formadas basicamente de um anel benzênico ligado à cadeia lateral com três carbonos, contendo dupla ligação, e podem apresentar grupo funcional com oxigênio (WATERMAN, 1993).

As plantas terrestres se adaptaram ao meio e se defenderam dos herbívoros, por meio de metabólitos secundários, como os óleos essenciais, que podem tanto atrair como repelir insetos (MANN, 1987). Muitos desses metabólitos são responsáveis por qualidades atribuídas aos vegetais ao longo do tempo, principalmente atributos medicinais, o que vem sendo referendado em pesquisas, tornando cada vez maior o interesse em se entender e controlar esses processos de síntese de metabólitos

secundários, tanto por parte da comunidade científica quanto por parte da indústria (SILVA e CASALI, 2000; ANDRADE e CASALI, 1999).

2.3. Óleos essenciais

A “International Standard Organization”, citada por SIMÕES e SPITZER (1999), considera os óleos essenciais como constituintes da categoria de princípios ativos produzidos por vegetais, caracterizados por serem separáveis pelo arraste a vapor e produzidos em estruturas anatômicas e celulares definidas, como cavidades e pêlos glandulares.

De forma geral, são substâncias voláteis, lipofílicas, geralmente odoríferas e líquidas. Também, podem ser chamadas de óleos voláteis, óleos etéreos ou essências. Suas principais características são a volatilidade e a baixa massa molar (SIMÕES e SPITZER, 1999). Normalmente são sintetizados nas folhas, armazenados em espaços extracelulares, entre a cutícula e a parede celular, e constituídos basicamente de terpenos.

Em razão da crescente valorização desses metabólitos secundários, as pesquisas têm se direcionado para maximizar a quantidade de óleo essencial produzido por planta, em várias espécies, sem perder a sua qualidade, ou seja, mantendo a concentração ideal de seus constituintes químicos de interesse (GONÇALVES, 2000).

De acordo com CASTRO (1997), o estudo da influência de fatores que levam a variações na produção de metabólitos secundários de interesse é preocupação constante em trabalhos realizados com plantas medicinais, pois, com os conhecimentos gerados, pode-se maximizar a produção dos fármacos, melhorando a qualidade das drogas sem, no entanto, acarretar custos adicionais ao processo produtivo.

Esse objetivo é alcançado tanto com a seleção de genótipos quanto de sistemas e ambientes de cultivo, cujas possibilidades são muitas (AMARAL et al., 1999).

A distribuição de recursos genéticos pode ser feita pela análise da produção de metabólitos secundários, em que se identificam os “quimiótipos”, que são constituídos de populações de plantas morfológicamente iguais, mas que apresentam características morfológicas iguais e distinção quanto às substâncias químicas que produzem (HAY, 1993). Tal fato foi verificado por MARTINS (1996) em *Ocimum selloi* Benth.

Óleos essenciais obtidos de diferentes órgãos da mesma planta podem apresentar composição química, propriedades físico-químicas e odores bem distintos (MARTINS, 1996).

A composição química do óleo essencial nas espécies de *Ocimum* apresenta, predominantemente, monoterpenos e sesquiterpenos. As espécies mais conhecidas apresentam metilchavicol, eugenol, linalol, 1,8-cineol (BARITAUX et al., 1992), cinamato de metila (PEREZ et al., 1995), geraniol (CHARLES e SIMON, 1990) e timol (NTEZURUBANZA et al., 1984) como constituintes majoritários.

Os estudos desenvolvidos com o óleo essencial do gênero *Ocimum* têm visado tanto a exploração do seu efeito inibitório da atividade de microrganismos - atuando como fitoalexinas e combatendo patógenos - quanto os aspectos relacionados à sua produção (KAMADA, 1998).

Pandey e Dubey, citados por KAMADA (1999), ao testarem diversos óleos essenciais sobre a inibição do crescimento de fungos patogênicos, verificaram que o óleo de *Ocimum canum* provocou 100% de inibição do crescimento micelial de *Pythium aphanidermatum*, *P. debaryanum* e *Rizoctonia solani*.

GOKTE et al. (1993) observaram que a concentração de 100 ppm do óleo essencial de *Ocimum sanctum* e *O. basilicum* demonstrou ação nematicida em *Meloidogyne incognita*, *Heterodera avenae*, *H. cajano* e *H. zaeae*. Esse efeito nematicida foi atribuído aos constituintes metilchavicol e linalol. O óleo essencial extraído das folhas de *O. basilicum*, em concentração de 3.000 ppm, demonstrou efeito fungistático sobre os patógenos da cana-de-açúcar, como *Colletotricum falcatum*, *Curvularia pallescens* e *Periconia atropurpurea* (RAO et al., 1992).

BATISTA et al. (1998), avaliando a eficácia dos óleos essenciais e dos hidrolatos ou águas aromatizadas, extraídas por arraste a vapor de *O. basilicum*, *Lavandula officinalis*, *Cymbopogon citratus* e *Eucalyptus citriodora*, no controle de fungos de sementes de soja, verificaram que esses produtos apresentavam menor número de colônias de *Penicillium* sp., com a ressalva de que as águas aromatizadas de *O. basilicum* e *C. citratus* eliminavam totalmente esse patógeno das sementes.

2.3.1. Importância econômica dos óleos essenciais

Óleos vegetais são fontes de recursos renováveis, com várias aplicações em indústrias. Os compostos encontrados nos óleos essenciais são importantes na elaboração de produtos naturais nas indústrias farmacêuticas, alimentícias e de cosméticos (CHARLES e SIMON, 1990). Além disso, a composição química do óleo essencial tem sido usada na taxonomia e filogenia de algumas espécies (ALMEIDA e FIGUEIREDO-RIBEIRO, 1986; GOTTLIEB e SALATINO, 1987; MARTINS, 1996).

Os países em desenvolvimento são as principais fontes de óleos brutos, em razão da existência de políticas de incentivos à diversificação da produção e, também, ao incremento do volume de exportações ou redução de importações, procurando equilibrar a balança comercial (VERLET, 1993). Assim, vários programas de produção de óleos essenciais têm sido iniciados por organizações governamentais e internacionais em todo o mundo não só visando às espécies tradicionais, como também às novas espécies.

Existem registros de importações realizadas na Holanda e Alemanha de 800 t/ano de folhas secas de *Ocimum* para extração de óleo, proveniente do Egito, do Marrocos e da Albânia. Os EUA têm importado de 30-50 t/ano de óleo de *Ocimum* da Índia (GUPTA, 1994). Embora difícil de estimar, avalia-se que, para obtenção de plantas da família Lamiaceae, sejam cultivados mais de 500 mil hectares no mundo (LAWRENCE, 1992).

O óleo essencial de manjeriço é importado e comercializado no Brasil em pequenas quantidades, atingindo valores de U\$41 a U\$50 o kg/FOB (George,1995, citado por TEIXEIRA et al., 2000).

Os programas de melhoramento de *Ocimum* visam aumentar a produção de óleo essencial e à obtenção de cultivares adaptáveis às condições de plantio (KAMADA, 1998), pois a qualidade da planta de manjeriço é definida pela composição do seu óleo essencial, que depende de sua origem geográfica (MARANCA, 1986; PETROPOULOS e VLACHOU, 1995).

2.4. Fatores que influenciam a produção e a variabilidade de óleos essenciais

O rendimento de óleo essencial é avaliado com base na matéria seca, podendo ser muito variável, o que depende de diversos fatores internos e externos, como época e horário de colheita.

A produção de óleo essencial, gerada via metabolismo secundário, é o resultado de complexas interações entre biossíntese, transporte, estocagem e degradação (WINK,1990). Cada um desses processos, por sua vez, é governado por genes e, portanto, influenciado por três fatores principais: hereditariedade, ontogenia e ambiente (ROBBERS et al., 1996).

Os fatores ambientais podem ser divididos em bióticos e abióticos, considerando-se que determinada população está, ao mesmo tempo, sempre interagindo com o ambiente, recebendo influência e interferindo no meio (CASTELLANI,1997).

Os fatores bióticos estão relacionados com as interações planta-microrganismos, planta-planta e planta-herbívoros e constituem respostas dos mecanismos, que variam de acordo com suas relações ecológicas locais e imediatas, resultando em situações que podem alterar os processos internos de síntese de metabólitos (ANDRADE e CASALI, 1999).

Entre os diversos fatores abióticos, encontram-se pressões de variações climáticas ou edáficas. A diversidade de ambientes

ecogeográficos do Brasil é um dos fatores responsáveis por sua enorme quantidade de espécies de plantas medicinais.

Segundo OLIVEIRA (1997), a adaptação às mais diversas condições ambientais apresenta desafios evolutivos incomuns, e as plantas que ocorrem ao longo dos gradientes ambientais variam também quanto à sua constituição genética e à sua atividade fisiológica, condicionadas pelo processo de seleção natural; embora pertencendo à mesma espécie, podem responder, de modo muito diferente, a dado grau de tensão ambiental.

Um dos componentes de adaptação se processa por mecanismos de defesa, como componentes químicos, que podem ser utilizados pela humanidade como medicinais (ANDRADE e CASALI,1999).

Segundo KAMADA (1998), em manjeriço (*Ocimum* spp.), verificou-se influência ambiental significativa no aspecto quantitativo da produção dos constituintes químicos, tornando necessária a avaliação dos efeitos fitoterápicos de acordo com o ambiente de desenvolvimento da planta. Os valores dos índices de determinação ambiental têm evidenciado que a proporção de variação total atribuída aos efeitos ambientais foi alta em todos os acessos. As médias obtidas a partir dos caracteres avaliados indicaram que o manjeriço-roxo apresentou maior valor (0,9780), seguido do manjeriço-branco (0,9609) e basilicão (0,9484). Dentre os manjeriços estudados por KAMADA (1998), o manjeriço-roxo exibiu maior plasticidade fenotípica, sendo relacionado à maior diferença entre as médias ambientais, com a ressalva de que o ambiente adubado organicamente proporcionou maior teor de óleo ao manjeriço-roxo.

Dentre os fatores climáticos, a temperatura exerce função muito importante na sobrevivência do vegetal, por estar mais ligada ao crescimento e desenvolvimento da planta.

Espécies pouco adaptadas às temperaturas de determinada região terão sérios problemas em produzir biomassa e princípios ativos, pois existe influência no metabolismo primário e, por conseqüência, no secundário, estando todos os outros fatores climáticos direta ou indiretamente relacionados com a temperatura (MARTINS et al.,1994). Outro fator a ser considerado é o fotoperiodismo, que exerce influência na determinação do

ponto de colheita, na produção de sementes e na escolha da época de plantio em espécies sensíveis, além do fato de que plantas em condições ambientais favoráveis têm capacidade de utilizar melhor a energia solar e aumentar a biomassa foliar, obtendo teoricamente maiores rendimentos econômicos (CASTELLANI, 1997).

A maioria dos poucos estudos sobre luz em plantas medicinais, particularmente sobre o metabolismo secundário, concentra-se na função da luz na síntese de óleos essenciais, o que tem despertado muito interesse nos últimos anos (LI e CRAKER, 1996). O incremento na quantidade de óleo essencial reflete grandemente o aumento do crescimento (CARVALHO e CASALI, 1999).

A época de colheita deve ser determinada visando não só do volume do material vegetal colhido, mas também ao teor mínimo de princípios ativos, sem o qual o produto não tem valor na produção de fitoterápicos (AMARAL et al., 1999).

O ponto de colheita pode variar de acordo com as partes da planta, o estágio de desenvolvimento, a época do ano e a hora do dia. A distribuição das substâncias ativas numa planta pode ser bastante irregular. FIGUEIREDO et al. (1996) observaram que o teor de óleo essencial não diferiu em diferentes partes de *Cymbopogon citratus*. No entanto, 5,93% a mais do teor de citral, um dos componentes majoritários do óleo essencial, foi detectado na folha. HOSE et al. (1997) constataram grandes mudanças quantitativas nas folhas das diferentes partes do eixo caulinar de *Melissa officinalis*, a saber: o teor de citral da região apical foi de 37,2%, enquanto na parte basal esse teor foi de 0,5% do rendimento de óleo essencial.

O momento da colheita pode alterar a concentração e a composição do óleo essencial (MATOS, 1996). Recomenda-se, usualmente, como o melhor horário de colheita o período da manhã, pois fornece óleo mais aromático do que quando efetuada nos horários mais quentes do dia (HERTWIG, 1986).

VASCONCELOS SILVA et al. (1999) observaram que houve variação do teor de eugenol em folhas de *Ocimum gratissimum*, atingindo o máximo do teor de óleo essencial (98%) às 12 h, decrescendo durante o dia

e atingindo 11% às 17 h, o que demonstra, dessa forma, que existe influência da luz solar e da temperatura sobre essa substância.

BAETA et al. (1996) observaram, em quatro espécies de Lamiaceae (*Mentha villosa*, *Ocimum americanum*, *Rosmarinus officinalis* e *Plectranthus barbatus*), variação no teor do óleo essencial de plantas colhidas em três épocas distintas, ainda que mantendo o mesmo horário de colheita, com a ressalva de que no verão as plantas apresentaram maior teor de óleo essencial. No monitoramento químico do cultivo de *Mentha x villosa* realizado por MATOS (1996), houve forte influência do ambiente sobre a produção de óleo essencial. Observou-se que somente as plantas colhidas entre junho e dezembro apresentavam atividades terapêuticas satisfatórias.

MARTINS et al. (1994) citaram que os alcalóides e os óleos essenciais encontram-se com maior frequência pela manhã. Tal fato foi confirmado no estudo de *Ocimum selloi* Benth, que apresentou maior teor de óleo essencial quando colhido às 7 h da manhã do que às 16 h (MARTINS, 1996).

BONNARDEAUX (1992) observou que plantas de *Ocimum basilicum* colhidas em plena floração apresentavam maior teor de óleo essencial do que antes do florescimento e que havia variações significativas no teor de óleos essenciais e de seus constituintes, ocorrendo o desaparecimento do eugenol ao final da tarde. Entretanto, LEMBERKOVICS et al. (1996) verificaram aumento no teor de óleo essencial durante a ontogenia de manjeriço (*Ocimum basilicum*), comprovando que o máximo de princípio ativo ocorre antes do florescimento e que há diferenças na composição química dos componentes do óleo essencial, de acordo com o estágio de desenvolvimento do vegetal. Antes do florescimento, há predominância do linalol, monoterpene do metilchavicol e de dois sesquiterpenos.

Em gêneros como *Melissa* e *Mentha*, há recomendações sobre a colheita das plantas com a finalidade de extração de seus óleos essenciais em épocas próximas ou na própria floração (CORREA JÚNIOR et al., 1994), pois é essa a época em que as plantas produzem maior quantidade de princípios ativos (CASTRO, 1997).

Estudos bioquímicos das várias fases de desenvolvimento de uma planta exigem que seja especificada a hora exata da colheita para que se possa extrair a maior quantidade de substâncias ativas (PETROV, 1979; CROTEAU, 1987; OLIVEIRA,1997).

2.5. Extração de óleos essenciais

Segundo LOPES (1997), várias técnicas podem ser empregadas na extração de óleos essenciais, como a hidrodestilação, destilação por arraste a vapor de água e extração com solventes orgânicos ou com CO₂ líquido, devendo-se ressaltar que o último processo apresenta ótimo resultado, mas com o inconveniente de ser extremamente caro. CRESPO et al. (1991) mencionaram que o método de extração deve ser escolhido de acordo com as características de cada espécie.

FALKENBERG et al. (1999) afirmaram que a utilização de material fresco pode ser indispensável na detecção de alguns componentes específicos. Seu emprego traz a vantagem de evitar a presença de substâncias oriundas do metabolismo de senescência do vegetal. No entanto, o material deve ser processado imediatamente ou conservado até a análise a baixas temperaturas.

O processo mais utilizado nas extrações é o arraste a vapor de água, que apresenta bom rendimento, facilidade de execução e custo baixo (MANCINI, 1984; MARTINS, 1996; CASTRO,1997).

CHARLES e SIMON (1990) avaliaram três métodos de extração de óleo, extração por solvente, arraste a vapor e hidrodestilação, utilizando duas espécies aromáticas, *Ocimum kilimandscharicum* e *O. micranthum*. Eles verificaram que a quantidade obtida por arraste a vapor foi maior em comparação com os outros métodos.

O tempo de destilação pode alterar tanto o rendimento do óleo essencial quanto a sua composição, conforme verificado por MANCINI (1984) em *Mentha arvensis* (hortelã) e por CICOGNA JÚNIOR et al. (1987)

em *Caryophyllus aromaticus* (cravo-da-índia) e *C. citratus* (capim-limão), ao testarem diversos tempos de hidrodestilação.

Durante o processo de destilação, a água, o pH e a temperatura podem provocar a hidrólise de ésteres, rearranjos, isomerizações e oxidações (SIMOES e SPITZER, 1999), o que pode explicar a razão de a composição dos produtos obtidos por arraste de vapor d'água diferir da mistura dos constituintes inicialmente presentes nos órgãos secretores do vegetal (SCHUMMAUS e KUBECZKA, 1985).

2.6. Análise dos óleos essenciais

A separação e a identificação dos componentes que normalmente formam os óleos essenciais oferecem algumas dificuldades, por causa da existência de diversos compostos isoméricos e da instabilidade apresentada por certos terpenos (Rudloff, 1974, citado por CASTRO, 1997). De acordo com COLLINS (1997), a separação e a identificação do óleo essencial requerem técnicas e instrumentos apropriados.

A cromatografia em fase gasosa (CG) é o método de escolha que separa e quantifica componentes dos óleos essenciais. Apesar do seu alto poder de diferenciação, é simples de usar. Como os óleos são suficientemente voláteis, a amostra é somente solubilizada em solventes antes de ser injetada no cromatógrafo. Com os objetivos de segurança na identificação dos picos individuais e controle da pureza de um pico cromatográfico, é recomendável analisar qualquer óleo volátil também por cromatografia em fase gasosa acoplada à espectrometria de massas (WATERMAN, 1993). Esse método permite, como a CG, a separação dos componentes e fornece, ainda, o espectro de massas de cada composto. O espectro de massas geralmente indica a massa molecular e o padrão de fragmentação. A massa molecular informa sobre a classe da substância. O padrão de fragmentação pode ser comparado com aqueles constantes do banco de dados de espectros de massas, que, normalmente, é instalado no computador (SIMÕES e SPITZER, 1999).

A identificação dos compostos individuais pode ser realizada por meio da comparação do tempo de retenção relativo à amostra com padrões, com vistas a ser mais independente das variações do tempo de retenção, em condições diferentes de medida; foi introduzido o índice de Kovats, que relaciona o tempo de retenção dos compostos ao tempo de retenção de uma série de hidrocarbonetos homólogos (SIMÕES e SPITZER, 1999).

3. MATERIAL E MÉTODOS

3.1. Material experimental

3.1.1. *Ocimum basilicum* L.

O manjericão semi-roxo apresenta folhas verdes com pigmentação roxa no centro das folhas, inflorescência de até 20 cm, flores arroxeadas, caule ereto com coloração roxa e alcança cerca de 1,00 m de altura. Devido à forma de crescimento, o seu caule herbáceo necessita de tutores (Figura 3).

Exsicatas de *Ocimum basilicum* L., manjericão utilizado no experimento, encontram-se no Herbário VIC do Departamento de Biologia Vegetal da Universidade Federal de Viçosa (UFV), em Viçosa, MG, com o registro VIC 22760 (manjericão semi-roxo).



Figura 3 - Campo de produção de manjeriço (*Ocimum basilicum* L) no Horto Medicinal/UFV. Viçosa, MG .

3.2. Obtenção das mudas e instalação e condução do experimento

3.2.1. Obtenção das mudas

A propagação de manjeriço foi realizada por estaquia de plantas-matriz existentes na Horta da Universidade Federal de Viçosa (UFV), em Viçosa, MG.

As estacas tinham por volta de 15 cm e foram colocadas diretamente em sacos de polietileno preto, de baixa densidade, contendo solo:areia:esterco, na proporção de 1:1:1, recebendo irrigação diária. As mudas permaneceram à sombra nas dependências do Grupo Entre Folhas - Plantas Medicinais, de Viçosa, MG, até 30 dias, quando foram transplantadas para o local definitivo do experimento.

3.2.2. Instalação do experimento

O experimento foi conduzido no Horto de Plantas Medicinais da UFV, em Viçosa, MG, localizada na Zona da Mata, em 20°45' de latitude sul e 42°51' de longitude oeste (ANUÁRIO ESTATÍSTICO DE MINAS GERAIS, 1994), na altitude de 651 m, durante o período de abril de 1999 a janeiro de 2000.

O clima de Viçosa, segundo a classificação de Köppen, citado por CASTELLANI (1997), é do tipo Cwa, com umidade relativa média anual do ar de 80%, temperatura média anual de 21 °C e precipitação anual média de 1.341 mm.

O transplante foi realizado em 14 de abril de 1999, em canteiros previamente preparados, sendo as mudas colocadas em covas de 0,50 x 0,50 m, com profundidade de 0,20 m, no espaçamento de 1,00 m entre plantas e 1,00 m entre linhas, adubadas com 3 L/cova de esterco bovino.

3.2.3. Manejo da cultura

No campo, utilizou-se o sistema de irrigação por sulcos e capina manual, e as inflorescências foram retiradas durante todo o ciclo. A colheita foi realizada nos meses de agosto de 1999 e janeiro de 2000, e após a primeira colheita as plantas receberam adubação orgânica de manutenção.

A partir de quatro meses, as plantas foram tutoradas com bambu e amarradas com barbante, pois, devido ao porte e à fragilidade dos galhos, são sujeitas ao tombamento e à abertura da planta por ventos, por chuvas e pelo próprio peso das plantas.

3.3. Delineamento experimental

O delineamento experimental foi o inteiramente casualizado em esquema de parcelas subdivididas, tendo na parcela um fatorial 2 x 2, com duas épocas e dois horários de colheita, com três repetições e três plantas/parcela.

As plantas constituintes das parcelas foram previamente marcadas e escolhidas aleatoriamente.

Os dados obtidos foram avaliados por meio de análise de variância no nível de 5% de probabilidade.

3.4. Coleta e preparo das amostras

Nos meses de agosto e janeiro, três parcelas foram colhidas pela manhã, às 8 h, e três parcelas à tarde, às 16 h.

De cada parcela, coletaram-se com tesoura de poda os ramos terminais (15 cm) de cada planta (folhas e caule), que foram acondicionados em bandejas previamente higienizadas e levadas ao laboratório.

No laboratório, as amostras foram selecionadas, eliminando-se aquelas com danos físicos e, ou, atacadas por insetos. Após a seleção, foram lavadas em bandejas higienizadas, contendo água gelada (cerca de

2 °C), com o objetivo de reduzir o calor de campo das espécies colhidas e a carga microbiana do local de cultivo e da manipulação do produto (CHAVES,1993; CAMPOS et al., 1999).

As plantas permaneceram por volta de duas horas no laboratório até a completa secagem da superfície das folhas e, em seguida, foram acondicionadas em embalagens de PVC [poli (cloreto de vinila)] de 19,5 x17 x 4 cm, na quantidade de 30 g por embalagem.

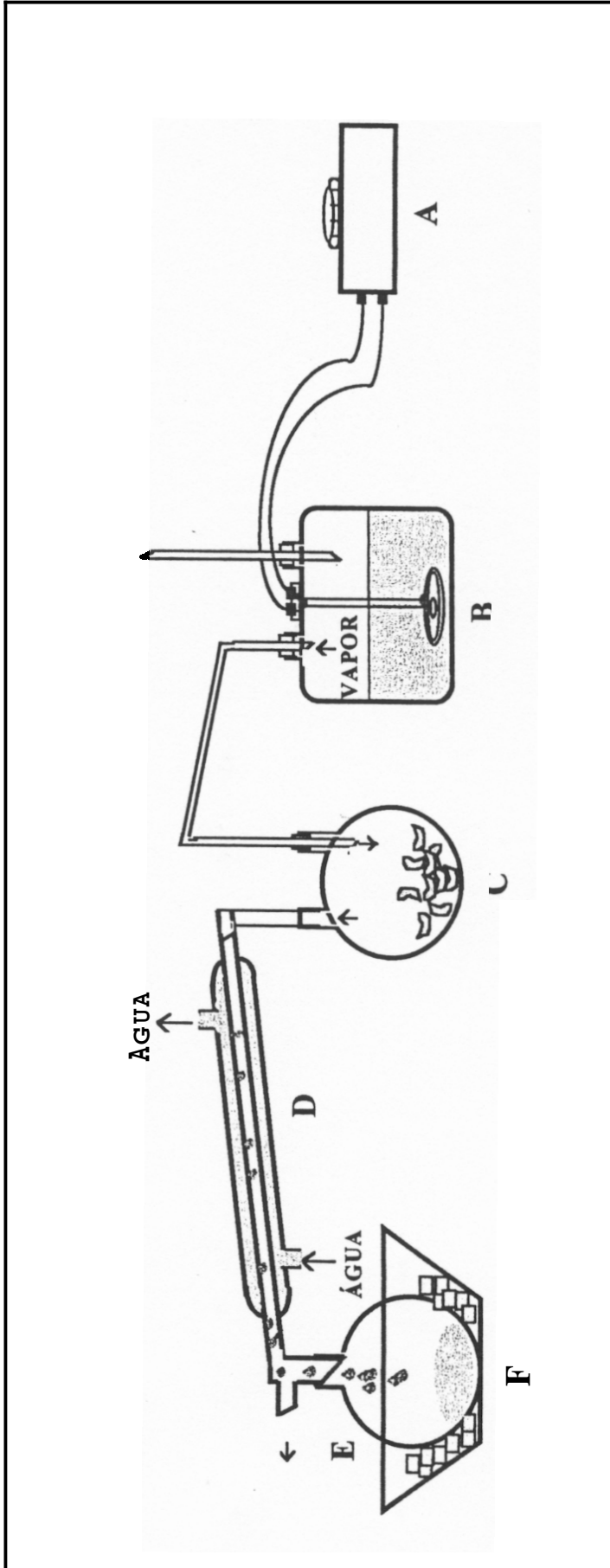
3.5. Extração do óleo essencial

A extração do óleo essencial foi realizada no Laboratório de Análise e Síntese de Agroquímicos (LASA), do Departamento de Química da UFV, pelo método de arraste por vapor d'água (MARTINS, 1996; LOPES, 1997; CASTRO,1997; KAMADA,1998), no qual se empregou o equipamento mostrado na Figura 4.

Antes de realizar as extrações do óleo essencial, procederam-se aos testes preliminares, com a finalidade de ajustar a metodologia, os quais tiveram os seguintes resultados: tempo de arraste de aproximadamente 120 min, 30 g de massa de plantas frescas utilizados na extração e volume de 1 L do hidrolato coletado.

O óleo essencial foi extraído com pentano (3 X 50 mL). A fase orgânica foi secada com sulfato de magnésio amido e filtrado, sendo o solvente removido sob pressão reduzida em evaporador rotativo.

Determinou-se a massa (g) de óleo obtida, e calculou-se a porcentagem de óleo em relação à matéria seca da planta. A matéria seca foi obtida por meio da secagem de cerca de 30 g da amostra da planta, a 70 °C, em estufa com circulação de ar forçada, até peso constante.



Fonte: adaptado de LOPES (1997)

Figura 4 - Esquema da montagem utilizada para extração de óleo essencial por arraste a vapor. A - regulador de tensão, B - gerador de vapor (com ebulidor), C - balão com material vegetal, D - condensador, E - balão com líquido condensado (hidrolato) e F - cuba com água e gelo.

3.6. Análises químicas

3.6.1. Cromatografia em fase gasosa

As amostras de óleo essencial, armazenadas sob refrigeração ao abrigo da luz, em frascos de vidro com tampa rosqueada e vedada com parafilme, foram analisadas por meio de cromatografia em fase gasosa. Utilizou-se cromatógrafo Shimadzu, modelo 17A, equipado com detector de ionização de chama (FID) e coluna capilar SBP-5 (30 m de comprimento e 0,25 mm de diâmetro interno). O gás de arraste utilizado foi o nitrogênio. A temperatura inicial da coluna foi de 60 °C, sendo mantida por um minuto e, então, programada para ter acréscimos de 3 °C a cada minuto, até atingir a temperatura máxima de 240 °C. As temperaturas do injetor e do detector foram fixadas em 220 e 240 °C, respectivamente. As amostras de óleo foram pesadas (cerca de 10 mg) e diluídas em 1,0 ml de pentano, sendo injetado 1 µL desta amostra no cromatógrafo.

3.6.2. Cromatografia em fase gasosa e espectrometria de massas

A cromatografia em fase gasosa e a espectrometria de massas foram realizadas em aparelho Shimadzu QP 5000. As condições operacionais usadas na cromatografia foram: coluna DB 5 (30 m de comprimento e 0,25 mm de diâmetro interno), temperatura do injetor (220 °C), temperatura do detector (240 °C); programa de temperatura: 60-240 °C por 3 °C/min e 240 °C por 15 min; gás de arraste He (1 mL/min), razão de Split 1:20; volume injetado (1 µL); energia de impacto eletrônico (70 e V); e fragmentos recolhidos (45 a 650 Da). Constituintes com concentração menor que 1% não foram considerados. A identificação dos compostos foi realizada por comparação dos espectros de massas obtidos com os do banco de dados do aparelho (Wiley 140.000) e pelo índice de Kovats de cada componente (ADAMS, 1995).

4. RESULTADOS E DISCUSSÕES

4.1. Teor de óleo essencial

O teor de óleo essencial nas plantas foi influenciado significativamente pela época e horário de colheita, conjuntamente. Os valores médios do teor de óleo nas plantas são mostrados na Figura 5.

Verificou-se que as plantas colhidas no mês de janeiro, às 8 h, apresentaram maior teor de óleo essencial do que as plantas colhidas no mês de agosto, no mesmo horário.

As plantas colhidas em janeiro, no período da manhã, apresentaram 1,33 ponto percentual a mais de óleo essencial (2,11%), ou seja, 170% a mais de óleo, em comparação com as plantas colhidas no mês de agosto no mesmo horário (0,78%). O horário de colheita não influenciou o teor de óleo nas plantas colhidas em agosto.

Considerando que o óleo essencial reflete também a resposta fisiológica à variação ambiental, supõe-se que, no mês de janeiro, as plantas aumentaram a produção de óleo essencial como resposta adaptativa às condições ambientais.

A temperatura, a umidade relativa, a duração total de exposição ao sol e o regime de ventos exercem influência direta, sobretudo sobre as

espécies que possuem estruturas histológicas de estocagem na superfície (SIMÕES e SPITZER, 1999), como é o caso do manjeriçõo.

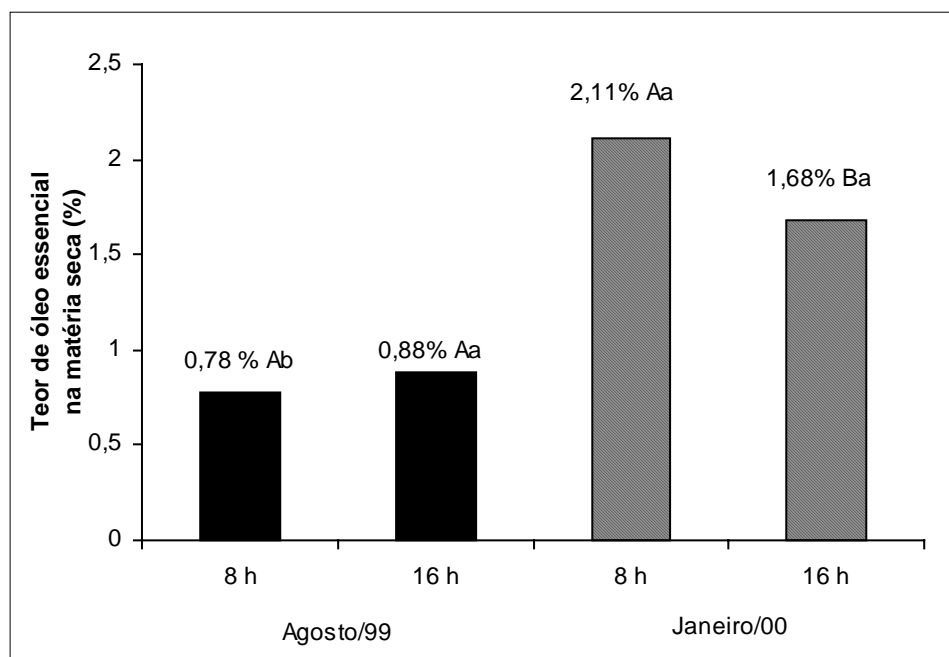


Figura 5 – Teor de óleo essencial nas plantas de manjeriçõo colhidas nos meses de agosto e janeiro, às 8 e às 16 h. Barras acompanhadas de mesma letra maiúscula na mesma época e de mesma letra minúscula no mesmo horário não diferem entre si, a 5% de probabilidade, pelo teste F.

GONÇALVES (2000) verificou que os tricomas glandulares das plantas de *Ocimum selloi* crescidas sob radiação solar plena podem ter sido mais eficientes na produção de óleo essencial. Resultados semelhantes foram obtidos em *Salvia officinalis* (LI et al., 1996).

O teor de óleo essencial nas plantas é influenciado diretamente por fatores edafoclimáticos. Na Figura 6 e no Quadro 1, observa-se que após o mês de agosto houve aumento crescente na temperatura média no decorrer do período de cultivo, fatores que podem ter contribuído no aumento do teor de óleo essencial. CASTRO (1997) verificou que em macaé (*Leonurus sibiricus* L.) existem evidências de que, na época de plena floração, uma parte do óleo essencial presente nos caules seja realocada nas partes reprodutivas da planta. Uma vez que as inflorescências foram retiradas do manjeriço e, teoricamente, as plantas estariam com o máximo de teor de óleo essencial nas folhas.

Durante o mês de agosto e os meses anteriores, no entanto, ocorreram períodos de baixa temperatura. Resultados semelhantes foram descritos por CRUZ et al. (1998), quando avaliaram a influência de fatores climáticos no teor de óleo essencial de *Ageratum conyzoides*, *Eucalyptus citriodora*, *Achillea millefolium* e *Cymbopogon citratus*, que apresentaram menores teores de óleo essencial no mês de agosto, devido a menores temperaturas (21,8 °C) e precipitações (1,0 mm) durante este período. Os referidos autores verificaram ainda que, na maioria das espécies descritas anteriormente, o maior teor de óleo foi em janeiro, em condições diárias médias de temperatura elevada (26,9 °C) e baixa precipitação (4,0 mm).

De acordo com GONÇALVES (2000), o óleo essencial do gênero *Ocimum* localiza-se em tricomas e nos glandulares superficiais, sendo essas estruturas fragilizadas pelo ambiente, uma vez que são de fácil ruptura e de teor muito volátil. Tal fato pode estar relacionado ao menor teor de óleo encontrado nas plantas colhidas às 16 h, no mês de janeiro. O óleo pode ter sido volatilizado durante o dia, em decorrência do aumento da temperatura. Portanto, no mês de agosto, o horário de colheita não influenciou no teor de óleo, podendo-se confirmar que nesse período, nessas condições citadas, a colheita pode ser realizada tanto às 8 (0,78 %) quanto às 16 h

(0,89 %); logo, recomendam-se esses dois horários de colheita no mês de agosto.

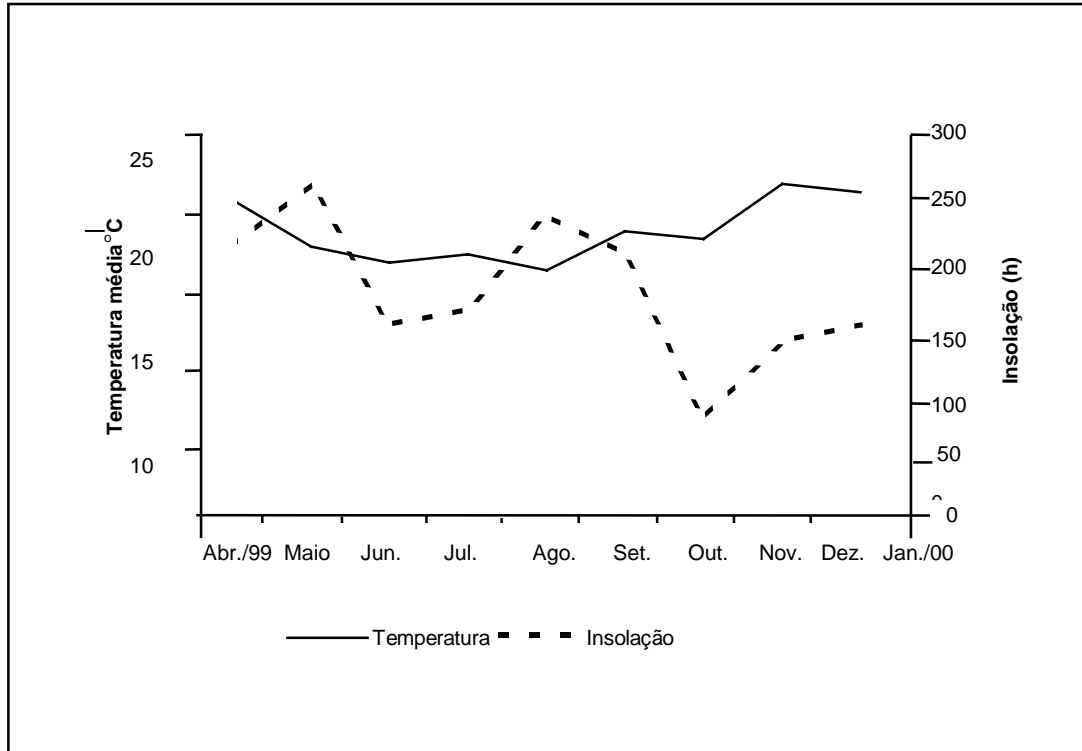


Figura 6 - Variação de temperatura e insolação na região de Viçosa durante o período experimental. Viçosa, MG, 2000.

Quadro 1 – Dados meteorológicos médios, obtidos no distrito de Viçosa, MG, referentes ao período experimental

Dados	Abr./99	Maior199	Jun./99	Ju1.199	Ago./99	Set.199	Out./99	Nov./99	Dez./99	Jan./00
Temp. média C	20,6	17,2	16,5	17,1	16,1	19,3	19,2	21,7	21,5	21,3
Temp. máx. C	27,8	25,3	24,5	24,4	25,9	27,1	25,0	27,8	27,9	30,9
Temp. mín. °C	16,1	11,7	11,5	12,4	8,94	12,8	14,7	18,7	18,6	20,9
Precipitação (mm)	36,5	2,0	13,2	4,2	0,0	50,7	118	108,9	112,5	288,5
Insolação (horas)	211,4	251,7	156,7	175	244,9	199,9	86,9	139,9	140,7	160,8

Fonte: Departamento de Engenharia Agrícola da Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, MG.

A mesma recomendação não é válida para janeiro, pois neste mês as plantas colhidas às 8 h (2,11%) tiveram maior teor de óleo do que as colhidas às 16 h (1,68%), ou seja, 25,6% a mais. Portanto, no mês de janeiro, o melhor horário de colheita foi às 8 h. O mesmo foi observado por MARTINS (1996) em *Ocimum selloi*.

Outro fato a ser observado é que as plantas colhidas em janeiro apresentaram maior período de desenvolvimento do que aquelas colhidas em agosto; logo, as plantas colhidas em janeiro apresentavam maior quantidade de partes jovens na porção terminal. Nos tecidos mais jovens poderia estar ocorrendo maior síntese de óleo essencial, por isso o aumento no mês de janeiro.

Alguns autores recomendam que as plantas ricas em óleos essenciais devem ser colhidas preferencialmente no período da manhã, pois o período de exposição ao sol pode provocar perda quantitativa importante do óleo existente no vegetal. O mesmo foi observado em *Ocimum basilicum* neste estudo, no mês de janeiro, pois houve redução do teor de óleo essencial em razão do horário de colheita.

4.2. Análise cromatográfica do óleo essencial

Por meio da cromatografia gasosa (CG), obteve-se o perfil cromatográfico de cada tratamento. Sendo os tratamentos semelhantes, utilizou-se na identificação dos compostos do óleo essencial a amostra mais representativa dos tratamentos, com maior número de picos.

Na Figura 7, observam-se os picos identificados por meio da cromatografia em fase gasosa e de espectrometria de massas. No Quadro 2, encontram-se a composição do óleo essencial e, na Figura 8, as estruturas químicas dos principais constituintes, identificados pela análise por espectrometria de massas.

Foram detectados mais de 200 componentes na amostra do óleo essencial. No entanto, optou-se por identificar aqueles que tivessem porcentagem igual ou superior a 1%.

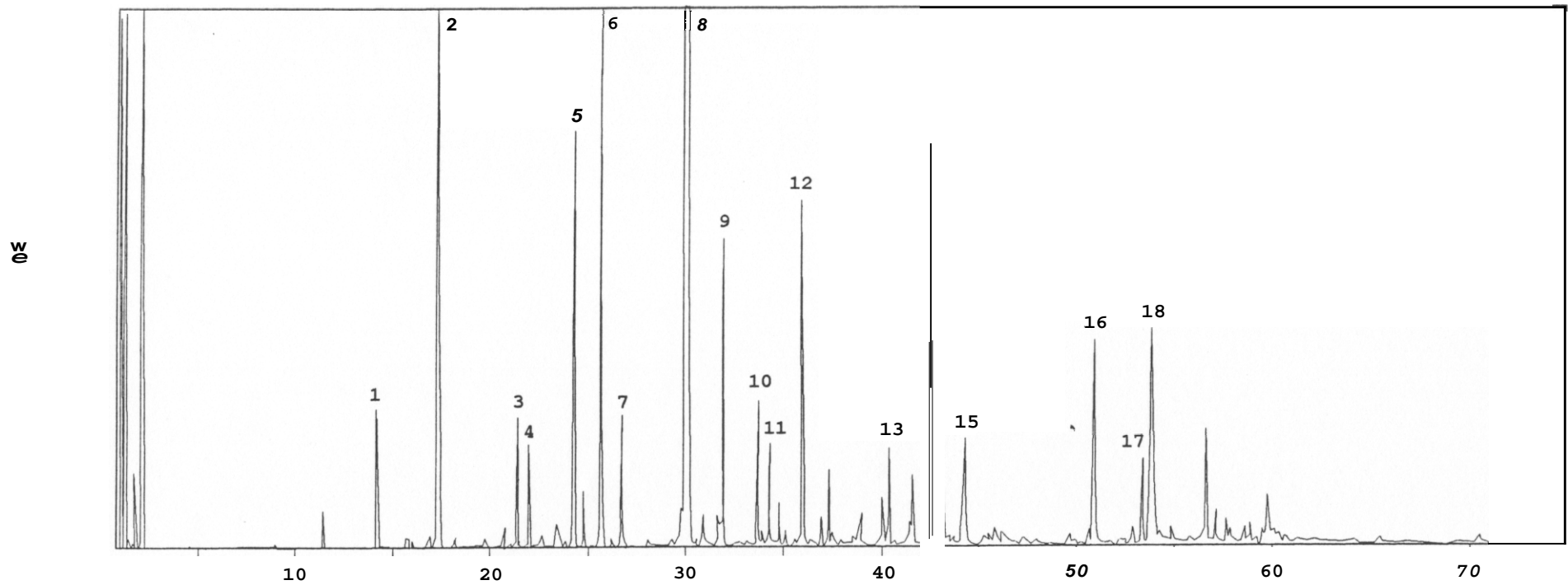


Figura 7 - Cromatograma do óleo essencial de manjericão (*Ocimum basilicum* L.) analisado por cromatografia em fase gasosa e espectrometria de massas. Viçosa, MG, 2000.

Quadro 2 - Composição química (% de área) do óleo essencial de *Ocimum basilicum* L., cultivado no Horto Medicinal de Viçosa, MG. Viçosa, 2000

Picos	Componente	Massa Molecular	T _R /min	KI	% de área
1	1,8-cineol	154	14,07	1003	1,22
2	Linalol	154	17,45	1082	21,24
3	4-terpineol	154	21,35	1173	1,31
4	α-terpineol	154	21,95	1187	1,07
5	Z-citral (neral)	152	24,30	1242	4,88
6	E-citral (geranial)	152	25,72	1276	8,46
7	Undecan-2-ona	170	26,78	1300	1,45
8	Eugenol	164	30,16	1380	32,61
9	Metil eugenol	178	31,89	1420	3,57
10	α-bergamoteno	204	33,65	1461	1,61
11	E-β-farneseno	204	34,28	1476	1,09
12	N.I.	-	35,90	1514	3,87
13	N.I.	-	40,37	1619	1,14
14	N.I.	-	42,57	1670	5,53
15	Torreiol (δ-cadinol)	222	44,21	1709	1,32
16	Hexadecan-1-ol	242	50,95	1867	2,83
17	N.I.	-	53,43	1925	1,02
18	Ácido palmítico	256	53,87	1935	5,79

T_R – Tempo de retenção, KI – Índice de Kovat's e N.I. – Não identificado.

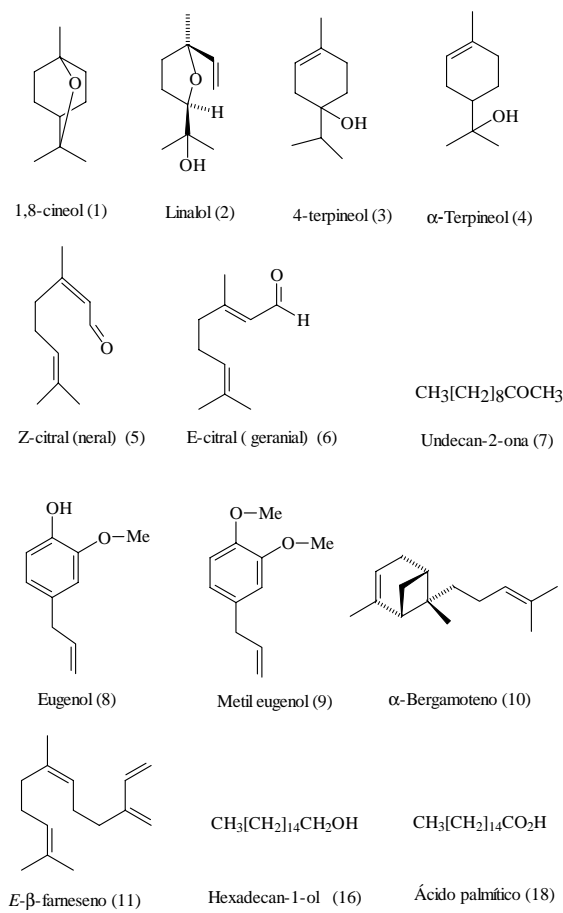


Figura 8 - Estruturas químicas dos componentes do óleo essencial de manjeriço (*Ocimum basilicum* L.), cultivado em Viçosa, MG, identificados por CG/MS.

Foram identificados monoterpenos (1,8-cineol, 4 terpineol, α -terpinoleno, eugenol, linalol) e sesquiterpenos (α -bergamoteno). Identificaram-se dois compostos majoritários, o eugenol e o linalol. Os espectros de massas do eugenol são mostrados na Figura 9. Os demais compostos podem ser considerados minoritários, quais sejam: 1,8-cineol, 4-terpineol, α -terpineol, *Z*-citral (neral), *E*-citral (geranial), udecan-2-ona, metil eugenol, α -bergamoteno, *E*- β -farneseno, torreiol (δ -cadinol), hexadecan-1-ol e ácido palmítico.

Alguns autores citaram os seguintes constituintes, os quais são indicativos do gênero *Ocimum*, terpinoleno, eugenol, terpinen-4-ol, 1,8-cineol (NTEZURUBANZA et al., 1984), α -terpineol, β -elemeno, cânfora (LEMBERKOVICS et al., 1996), *E*-cariofileno, biciclossesquifelandreno, α -bergamoteno (MARTINS, 1996), metilchavicol, anisaldeído e anetol (GONÇALVES, 2000).

Na Figura 10, encontram-se os cromatogramas do óleo essencial do manjeriço colhido nos meses de agosto/99 e janeiro/00, às 8 e às 16 h.

Observa-se, pelos picos enumerados nos cromatogramas da Figura 10, que não houve considerável modificação da composição química do óleo essencial. As plantas colhidas no mês de agosto/99 e no mês de janeiro/00 não apresentaram composição química diferente com relação ao mês e ao horário de colheita. Apesar de plantas colhidas em janeiro, às 8 h, apresentarem maior teor de óleo essencial, sua composição não teve modificação qualitativa daquelas colhidas em outras condições.

KAMADA (1998), trabalhando com manjeriço-branco, manjeriço-roxo e basilicão, cultivados em quatro ambientes, observou que a variação ambiental não induziu mudança qualitativa na composição química do óleo essencial, em razão da presença dos mesmos picos dos cromatogramas de cada acesso. Entretanto, verificou variações na concentração de terpinoleno e eugenol.

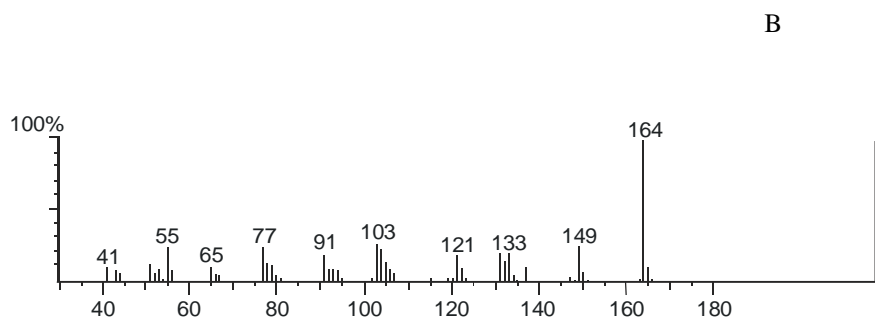
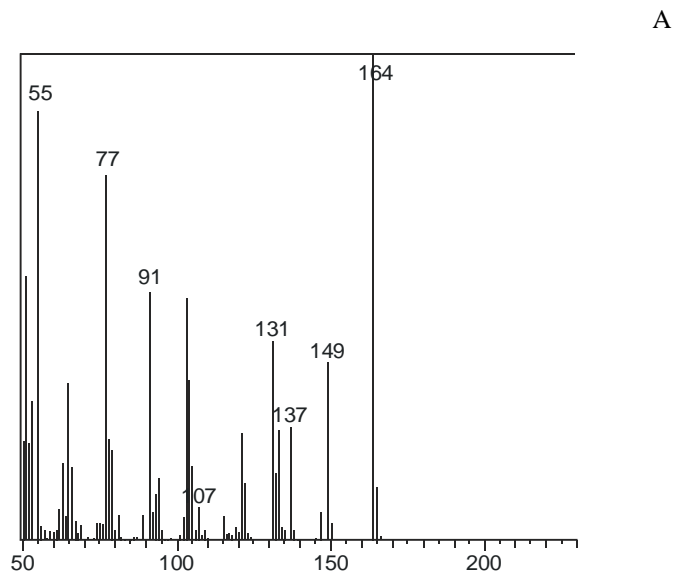


Figura 9 - Espectros de massas do eugenol presente no óleo essencial de *Ocimum basilicum* L., cultivado no Horto Medicinal de Viçosa, MG (A), em comparação com o descrito por ADAMS (1995) (B).

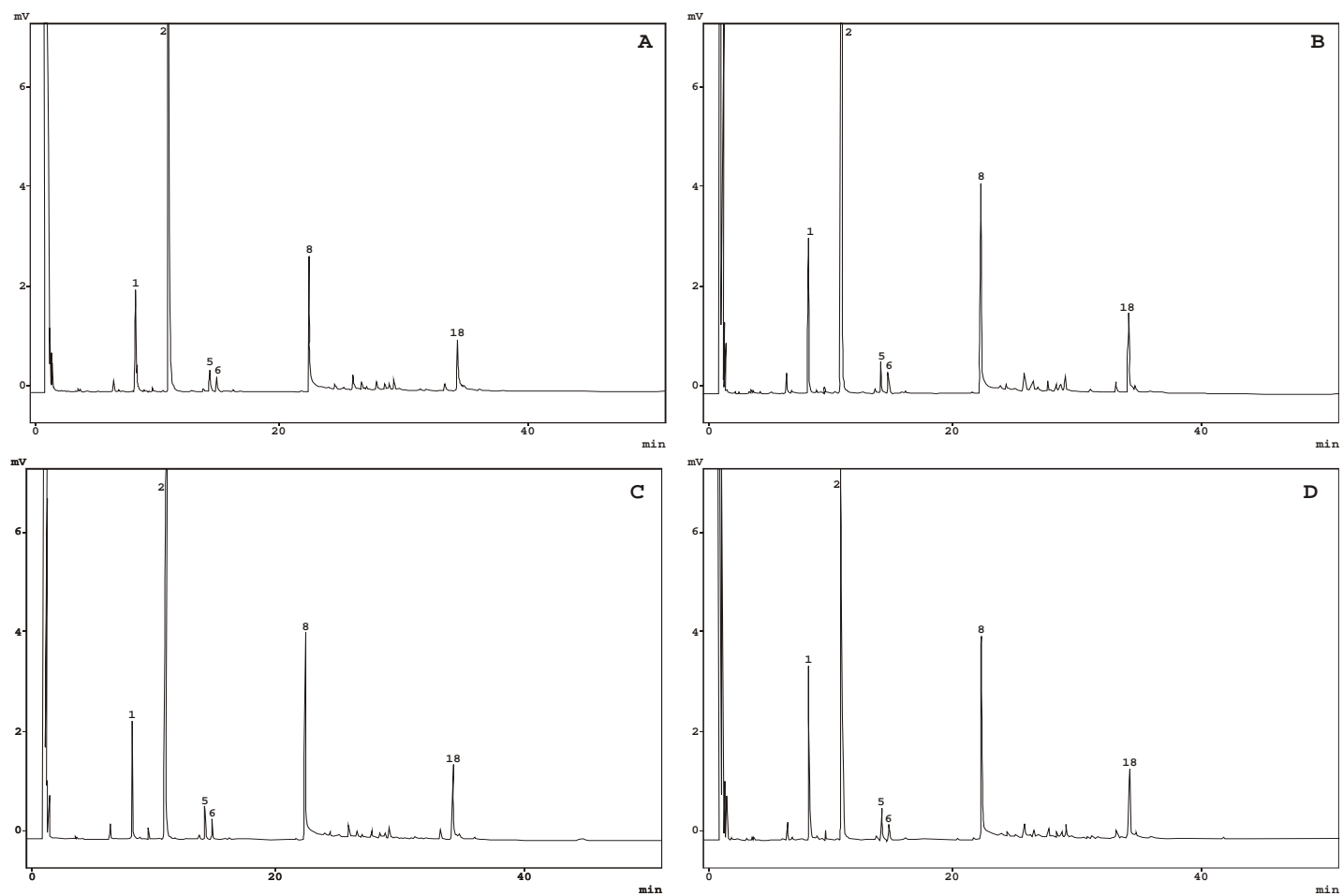


Figura 10 – Cromatograma de óleo essencial de manjerição colhido em (A) agosto/99, às 8 h; (B) janeiro/00, às 8 h; (C) agosto/99 às 16 h; e (D) janeiro/00, às 16 h, analisado por cromatografia em fase gasosa. Viçosa, MG, 2000.

5. CONCLUSÕES

- (1) O teor de óleo essencial foi influenciado conjuntamente pela época do ano e pelo horário de colheita.
- (2) O teor de óleo no mês de janeiro/00 às 8 h foi maior que em agosto/99 e do que em janeiro às 16 h.
- (3) Não houve modificação da composição química do óleo essencial nas duas épocas e nos dois horários de colheita.
- (4) Os componentes majoritários do óleo essencial de *Ocimum basilicum* L. foram o eugenol e o linalol.

CAPÍTULO 2

CONSERVAÇÃO PÓS-COLHEITA DE MANJERICÃO (*Ocimum basilicum* L.)

1. INTRODUÇÃO

Os produtos perecíveis, especialmente hortaliças, em que se insere o manjericão, são assim designados por não se conservarem por longos períodos de tempo, sendo, em alguns casos, mantidos por apenas alguns dias ou, no máximo, semanas. Sua principal causa de perda é endógena, embora fatores externos também possam ser de importância.

As condições agroclimáticas e outros fatores, como nível de danos causados por fungos, presença de outros microrganismos causadores de doenças, condições de armazenamento e cuidados durante o manuseio e transporte, determinam o grau das perdas pós-colheita (SILVA e CASALI, 2000). As condições ambientais desejadas podem ser obtidas por meio do controle da temperatura, da circulação de ar, da umidade relativa e da composição da atmosfera (CHITARRA e CHITARRA, 1990).

A senescência dos tecidos decorre da oxidação de diversos compostos, como proteínas, lipídios e clorofila. O teor de clorofila é utilizado no monitoramento do processo de senescência e conservação pós-colheita

(CANTWELL e REID, 1994; PHILOSOPH-HADAS et al., 1994; MEIR et al., 1997). Além disso, a senescência é acompanhada pelo aumento da atividade das enzimas peroxidases e polifenoloxidasas, responsáveis pelo escurecimento dos tecidos e acúmulo de compostos fenólicos (UNDERHILL e CRITCHLEY, 1995).

A conservação pós-colheita de hortaliças folhosas é ainda influenciada pela hora da colheita, pois os maiores teores de açúcares presentes no período da tarde contribuem para manutenção da atividade metabólica e maior conservação dos tecidos (AMARANTE, 1991).

A utilização de hortaliças pré-embaladas com filmes plásticos no Brasil é recente, mas com grande potencial de crescimento, devido à economia de tempo e ao trabalho que proporciona em redes de alimentação rápida e restaurantes. O processamento atende consumidores que buscam hortaliças prontas para consumo com aparência de produto fresco e sem conservantes químicos - uma tendência mundial (LUENGO e LANA, 1997).

O manjericão fresco é utilizado tanto na indústria alimentícia quanto na produção de fitoterápicos, sendo reconhecida a sua importância na alimentação e na terapêutica.

O presente trabalho teve por objetivo avaliar a conservação pós-colheita de *Ocimum basilicum* L., colhido em duas épocas do ano e em dois horários de colheita, acondicionado em embalagem de PVC e armazenado a 10 °C.

2. REVISÃO DE LITERATURA

2.1. Aspectos gerais da pós-colheita

A maior parte das plantas medicinais é utilizada na forma seca, devido a facilidade de manuseio, durabilidade e transporte. Entretanto, de acordo com CANTWELL e REID (1994), MARTINS et al. (1994), SILVA e CASALI (2000), a planta fresca é considerada mais aromática e melhor em qualidade em relação à seca, garantindo a atuação eficaz do fitoterápico; sendo válido também o uso condimentar.

O material colhido no momento mais adequado e de forma correta deve ser acondicionado de maneira a preservar o máximo de suas características iniciais. Assim, evita-se a aceleração do processo de degradação, que pode contribuir com perdas significativas de qualidade e higiene do produto final (SILVA e CASALI, 2000).

O metabolismo de muitos compostos secundários é essencial à vida das plantas, tanto na pré-colheita quanto na pós-colheita. Durante o período de pós-colheita, a síntese de muitos compostos é continuada e há degradação de outros compostos, liberando energia e precursores das reações de síntese de outros compostos. Muitas dessas mudanças nem sempre são desejáveis (KAYS, 1991). O tipo e a intensidade de atividade fisiológica pós-colheita dependem de cada órgão da planta, que determina,

em grande extensão, a longevidade do material durante o armazenamento na etapa pós-colheita (CHITARRA e CHITARRA, 1990).

As mudanças químicas são direta ou indiretamente relacionadas com atividades oxidativas e fermentativas, designadas como oxidações biológicas.

A colheita interrompe o suprimento de água ao órgão vegetal. Assim, a perda de água subsequente por transpiração determinará, em grande parte, as perdas quantitativas e qualitativas dos produtos frescos. Além disso, a perda de água pode acelerar a deterioração pelo aumento da taxa de algumas reações de origem catabólica, como a degradação de clorofila (FINGER e VIEIRA, 1997).

A qualidade pós-colheita de vegetais frescos depende também de fatores pré-colheita, que são resultantes da combinação de componentes genéticos e ambientais (WESTON e BARTH, 1997). Essa qualidade pode ser mantida, desde que realizados manejos adequados durante a vida pós-colheita. Assim, torna-se necessário conhecer o comportamento das espécies em condições diversas de luz, temperatura, umidade, uso de embalagens e potencial de estocagem.

Os tecidos vegetais só apresentam funcionamento normal de seus mecanismos fisiológicos num intervalo limitado de temperatura. Os limites máximos de temperatura encontram-se entre 30 e 35 °C, porém a suscetibilidade à injúria, no limite mínimo de temperatura, é muito variável.

A atividade respiratória é reduzida pelo uso de baixas temperaturas. Dentro de uma variação fisiológica própria de cada espécie, a taxa respiratória normalmente é aumentada com a temperatura, principalmente na faixa de 5 a 20 °C (CHITARRA e CHITARRA, 1990).

A temperatura e o tempo de armazenagem influenciam a vida de prateleira de *Ocimum basilicum* (WEST, 1990), ocorrendo injúria por frio quando os ramos são mantidos abaixo de 5 °C (LANGE e CAMERON, 1994). Esses mesmos autores avaliaram a conservação pós-colheita pelos sintomas de injúria por frio, como necrose e aquosidade dos tecidos, além de clorose e micélio de fungos. Relataram também que a vida de prateleira

foi mais duradoura quando os ramos de *Ocimum basilicum* foram colhidos no final da tarde.

Folhas frescas de *Ocimum basilicum* L., estocadas até oito dias a 12 °C, não desenvolveram sintomas de injúria por frio, mas, quando estocadas a 4 °C, os sintomas apareceram após dois dias de estocagem e aumentaram severamente com a duração desta. Em temperaturas moderadas de 8 °C, os sintomas de injúria apareceram após quatro dias de estocagem (MEIR et al., 1997).

Outro fator a ser considerado na pós-colheita é a embalagem, na qual o produto será armazenado. As embalagens de maneira geral são usadas em larga escala como proteção física, visando reduzir a deterioração na comercialização e no armazenamento das plantas medicinais. Essas embalagens, quando usadas logo após a colheita, na planta fresca, reduzem o manuseio entre o produtor e o consumidor. Contudo, a maior vantagem do uso de embalagens na comercialização é manter a qualidade dos produtos pela redução da perda de água. Porém, os filmes plásticos permitem o acúmulo de CO₂ e a redução na concentração de O₂ pela respiração do próprio produto, levando a formação de atmosfera modificada no interior da embalagem, o que pode favorecer a conservação do produto (FINGER e VIEIRA, 1997).

Os tipos de embalagem de armazenamento de plantas dependem da espécie, da quantidade e do destino da produção. Segundo SILVA et al. (1999), no orégano, na mil-folhas e na salsa, a contaminação variou em decorrência da embalagem, sendo o frasco de vidro melhor com relação ao padrão microbiológico.

SANKAT e MAHARAJ (1996), avaliando características pós-colheita de *Eryngium foetidum* L., verificaram que a embalagem em pacotes de polietileno de baixa densidade retardou a degradação da clorofila e a perda de odor, mantendo o sabor.

SHALABY et al. (1988), estudando o efeito do armazenamento de óleo essencial de *Mentha arvensis*, verificaram diferenças na composição do óleo essencial ao longo do tempo. Com o armazenamento, algumas substâncias, como o mentol, tiveram sua concentração inicial reduzida.

Se todos os cuidados durante a colheita, a pós-colheita e o armazenamento forem realizados, o produto chegará ao final da cadeia produtiva dentro do padrão de comercialização. O período de armazenamento também pode alterar o teor de óleo essencial e comprometer a finalidade terapêutica ou condimentar das espécies medicinais (SILVA e CASALI, 2000).

2.2. Qualidade microbiológica

O valor comercial das plantas medicinais é determinado pela qualidade (SCHEFFER et al., 1991). Dessa forma, a qualidade microbiológica merece consideração, pois o exame de determinada planta fornece informações importantes sobre sua qualidade, higiene e sanificação em sua manipulação e, ao longo do processamento, adequação das técnicas utilizadas na preservação e eficiência das operações de transporte e armazenamento do produto (MELO et al., 2000).

As matérias-primas de origem vegetal destinadas à produção de fitoterápicos devem atender aos padrões de planta fresca da resolução n° 17, de 24.02.2000, da Vigilância Sanitária (BRASIL, 2000), e pesquisas de contaminantes microbiológicos, entre outros.

Os alimentos de forma geral, incluindo as plantas medicinais, que podem ser consideradas hortaliças folhosas, apresentam boas condições de crescimento e desenvolvimento de microrganismos. Alguns fatores propiciam a presença dos microrganismos: a própria espécie, a umidade, o pH e a presença de condições adequadas e os fatores intrínsecos e extrínsecos.

Segundo DALL' AGNOL e NASCIMENTO (1998), um dos maiores problemas na indústria de fitoterápicos com relação à qualidade das matérias-primas de origem vegetal é a contaminação microbiológica. Esses autores, analisando 627 lotes de matérias-primas de 87 diferentes espécies de plantas, verificaram que 46,7% foram rejeitadas por conterem bolores e leveduras acima do permitido e 11,2% por conterem microrganismos

patogênicos, com a ressalva de que, destes, 71,4% apresentaram contaminação por *Escherichia coli*. Tais resultados indicam que os principais microrganismos envolvidos na contaminação microbiológica das drogas vegetais são os fungos e, entre os patógenos, a *E. coli*. Portanto, obter matéria-prima de origem vegetal em boas condições higiênico-sanitárias significa adotar normas de boas práticas de cultivo, colheita e beneficiamento após a colheita, bem como certificar fornecedores e realizar controle microbiológico das matérias-primas.

Trabalhos realizados pelo Herbarium Laboratório Botânico LTDA., avaliando a qualidade de plantas aromáticas comercializadas em Curitiba, PR, evidenciaram que, de 10 espécies estudadas, a metade apresentou teor de óleo essencial inferior ao especificado e 12% estavam contaminadas por bolores e insetos.

A avaliação microbiológica da planta possibilita a estimativa de vida útil, bem como pela pesquisa de microrganismos patogênicos ou indicadores de contaminação fecal, se será positivada ou não a existência de riscos à saúde pública advindos de seu consumo (AZEVEDO et al., 1988).

As plantas medicinais após a colheita ainda podem conter grande número de fungos e bactérias, geralmente provenientes do solo, pertencentes à microflora natural de certas plantas ou, mesmo, introduzidas durante a manipulação (SIMÕES e SPITZER, 1999; CHAVES, 1993). Dependendo das condições de manejo e beneficiamento pós-colheita, microrganismos podem desenvolver-se, intensificando a contaminação (WHO, 1992).

A determinação dos limites de tolerabilidade é discutida em vários países, sendo freqüentemente aceitos os valores estabelecidos para alimentos.

No Brasil, a Portaria nº 451, de 19.09.1997, da Secretaria de Vigilância Sanitária do Ministério da Saúde, propõe, em seu anexo I, padrões microbiológicos e o grupo de alimentos em que incluem hortaliças frescas, refrigeradas ou congeladas, sendo os valores máximos de 2×10^2

NMP/g (Número Mais Provável) do produto quanto ao grupo microbiano referente a coliformes fecais e à ausência de salmonelas em 25 g.

A farmacopéia europeia estabelece algumas normas para as drogas vegetais (BRISTH, 1996), no entanto não menciona parâmetros de plantas frescas, sendo, nesse caso, utilizados os parâmetros de alimentos.

COSTA et al. (1999), avaliando tratamentos pós-colheita em manjeriço, observaram que as plantas lavadas com solução de hipoclorito de sódio e com jato de água mantiveram-se dentro dos padrões de comercialização quanto à contaminação microbiana.

SILVA et al. (1999), avaliando padrões microbiológicos de três espécies medicinais, verificaram que em salsa, orégano e mil-folhas a contaminação por bolores e leveduras foi maior em embalagem de vidro.

3. MATERIAL E MÉTODOS

3.1. Material experimental e condução do cultivo no campo

As plantas de *Ocimum basilicum* L. foram cultivadas no Horto de Plantas Medicinais da UFV, em Viçosa, MG, localizada na Zona da Mata, em 20°45' de latitude sul e 42°51' de longitude oeste (ANUÁRIO ESTATÍSTICO DE MINAS GERAIS, 1994), na altitude de 651 m. O plantio foi realizado em 14 de abril de 1999 e o campo de produção, mantido até janeiro de 2000.

3.2. Coleta e preparo das amostras

Nos meses de agosto e janeiro, três parcelas foram colhidas às 8 h e três às 16 h, respectivamente.

De cada parcela, coletaram-se, com tesoura de poda, os ramos terminais de cada planta, os quais foram acondicionados em bandejas previamente higienizadas com álcool 70% e levadas ao laboratório.

No laboratório, as plantas foram selecionadas, eliminando-se aquelas com danos físicos e, ou, atacadas por insetos. Utilizou-se a porção terminal de cada ramo (15 cm). Após a seleção foram lavadas em bandejas higienizadas, contendo água gelada (cerca de 2 °C), com o objetivo de

reduzir o calor de campo das espécies colhidas e a carga microbiana no local de cultivo e manipulação do produto (CHAVES,1993; CAMPOS et al., 1999).

As manipuladoras utilizavam luvas plásticas higienizadas com álcool 70 %, máscara, avental e touca no cabelo durante todo o período de manipulação do produto.

As plantas permaneceram aproximadamente duas horas no laboratório até a completa secagem da superfície das folhas. Em seguida, foram acondicionadas em embalagens de PVC de 19,5 x 17 x 4 cm com 30 g por embalagem, contendo folhas e caule. A embalagem foi fechada e vedada com fita adesiva e levada imediatamente à câmara fria, a 10 °C do Departamento de Fitotecnia da UFV. Essas amostras foram armazenadas por nove dias, sendo os dados coletados de três em três dias. Somente as amostras destinadas à avaliação microbiológica permaneceram 12 dias na câmara fria.

3.3. Avaliação da degradação da clorofila

A quantidade de clorofila foi avaliada pelo método não-destrutivo por meio de um medidor portátil MINOLTA SPAD-505, com unidades em Spad. Os valores de clorofila são calculados com base na quantidade de luz transmitida pela folha em duas regiões de comprimentos (vermelho e infravermelho) de onda, nas quais a absorvância da clorofila é diferente. A luz que passa através das amostras das folhas atinge o receptor, que converte a luz transmitida em sinais elétricos analógicos, sendo estes amplificados e, posteriormente, convertidos em sinais digitais. Tais sinais são usados pelo microprocessador para calcular o valor Spad (“Silicon Photodiode”).

De três em três dias, de cada amostra foram tomados dados de 20 folhas, os quais geraram o valor da repetição durante os nove dias de armazenamento.

3.4. Avaliação visual

Sendo a cor atributo de qualidade e atrativo ao consumidor, foi adotado o sistema de notas de acordo com LANA et al. (1993), com modificações.

Nota 1 - ótimo: completamente túrgido, ótimo aspecto comercial;

Nota 3 - bom: sinais moderados de injúria, porém com valor comercial; e

Nota 5 - regular: sinais acentuados de injúria, sem valor comercial.

3.5. Avaliação microbiológica

As análises microbiológicas foram realizadas no Laboratório de Microbiologia e Higiene Industrial do Departamento de Tecnologia de Alimentos, da UFV, em Viçosa, MG, somente as amostras das plantas coletadas em janeiro, às 8 h. De cada parcela, nos dias 0, 3, 6, 9 e 12, foram tiradas amostras de 11 g do produto e colocadas em homogeneizador por um minuto e, em seguida, diluídas de acordo com o “Internacional Standard Organization”.

Os grupos microbianos analisados foram coliformes totais e fecais, bolores, leveduras e *Staphylococcus aureus*.

Em todas as avaliações, utilizaram metodologias propostas pelo MAARA (Ministério da Agricultura, do Abastecimento e da Reforma Agrária), descritos em “Métodos de Análise Microbiológica para Alimentos” (1991/1992).

A vidraria foi esterilizada a 180 °C/2 h, e as soluções e os meios de cultura foram a 121 °C/15 min, conforme recomendações dos fabricantes.

A solução de diluição utilizada foi água peptonada 0,01%, pH 7,0 ± 0,1, meio onde foram homogeneizadas e diluídas as amostras vegetais. Utilizaram-se garrafinhas de diluição, que foram esterilizadas a 121 °C, por 15 min.

3.5.1. Bolores e leveduras

Na determinação de bolores e leveduras, o meio utilizado foi o BDA (batata-dextrose-ágar), que, após a esterilização, foi acidificado até pH 3,5 com ácido tartárico (3,5%), no momento do uso. Em cada parcela foram utilizadas, também, duas diluições (10^{-2} e 10^{-3}) e as duplicatas. As placas foram incubadas a 22-25 °C, por 72 horas (temperatura ambiente). O resultado foi expresso em UFC/g (Unidade Formadora de Colônia/grama de produto), obtido pela multiplicação do número de colônias na placa, após incubação, pelo inverso da diluição.

3.5.2. Coliformes totais e fecais

A determinação de coliformes totais foi feita por meio da técnica do Número Mais Provável (NMP). Utilizou-se caldo verde brilhante bile 2% lactose, preparado de acordo com o fabricante.

Foram feitas três séries de três tubos, inoculando-se as diluições 10^{-1} , 10^{-2} e 10^{-3} em 10 mL de caldo verde brilhante bile 2% lactose, contendo tubos de fermentação. As amostras foram homogeneizadas e incubadas a 35 °C, por 24 a 48 horas. Essas amostras foram submetidas ao teste de coliformes fecais simultaneamente, em tubos de caldo EC e tubos de caldo triptona preparados de acordo com o fabricante, os quais foram incubados a $45,5 \text{ }^{\circ}\text{C} \pm 0,2 \text{ }^{\circ}\text{C}$ por 24-48 horas, em banho-maria, com agitação. Após a incubação, verificou-se a fermentação da lactose, por meio da presença de gás e do teste da presença de indol; nesse caso, adicionou-se cerca de 0,3 ml do reativo de Kovacs. Agitou-se, e o aparecimento da coloração vermelho-escura na camada de álcool isoamílico representou reação positiva. Considerou-se a presença de coliforme fecal quando ambas as provas apresentavam resultados positivos.

3.5.3. *Staphylococcus aureus*

Inoculou-se 0,1 mL das amostras sobre a superfície das placas de Petri, contendo o meio Baird-Parker, obtendo as diluições 10^{-2} e 10^{-3} . Com o auxílio da alça de Drigalsky, espalhou-se o inóculo, cuidadosamente, por toda a superfície do meio. Incubaram-se as placas invertidas a 35°C por 30-48 horas, e avaliou-se a presença de colônias típicas, negras brilhantes com anel opaco, rodeadas por um halo claro transparente, destacando-se sobre a opacidade do meio.

3.6. Extração de óleo essencial

A extração do óleo essencial foi realizada conforme descrito no capítulo 1.

A extração de óleo foi realizada nos dias 0, 3, 6 e 9 de armazenamento do produto.

3.6.1. Análises químicas

O óleo essencial foi analisado por meio de cromatografia em fase gasosa (CG) e espectrometria de massas (EM) durante o período de armazenamento, sendo os dados coletados de três em três dias.

A metodologia utilizada encontra-se descrita no capítulo 1.

3.7. Delineamento experimental

O delineamento experimental foi o inteiramente casualizado em esquema de parcelas subdivididas, tendo na parcela o fatorial 2×2 , com duas épocas e dois horários de colheita, e na subparcela os dias de armazenamento após a colheita, com três repetições e três plantas/parcela.

Os dados obtidos foram analisados por meio da análise de variância e de regressão no nível de 5% de probabilidade.

3.8. Análise da avaliação microbiológica

Na avaliação microbiológica, utilizaram-se as plantas colhidas em janeiro/00, no período da manhã, as quais foram armazenadas por 12 dias em embalagem de PVC a 10 °C, sendo os dados coletados de três em três dias.

O delineamento experimental foi inteiramente casualizado, com três repetições. Os dados obtidos foram avaliados por análise de regressão a 5% de probabilidade.

4. RESULTADOS E DISCUSSÃO

4.1. Teor de óleo essencial, clorofila e análise visual

O teor de óleo essencial na pós-colheita foi influenciado pela época de colheita e pelos dias de armazenamento do produto. Não houve efeito significativo ($P < 0,05$) dos horários de colheita.

Os resultados da Figura 1 indicam que tanto as plantas colhidas em agosto quanto as colhidas em janeiro tiveram decréscimo linear no teor de óleo com o decorrer do armazenamento.

O fato de as plantas apresentarem maior teor de óleo em janeiro/00 indica que o fator pré-colheita deve ser considerado na qualidade do produto, aliado à produção máxima de princípio ativo. Esse aumento no teor de óleo em janeiro pode ter sido devido às variações climáticas, como discutido no capítulo 1.

Apesar do maior declínio do teor de óleo essencial (Figura 1), as plantas colhidas em janeiro ainda continham maior teor de óleo aos nove dias (1,53%), em razão do maior teor inicial das plantas colhidas nessa época do ano.

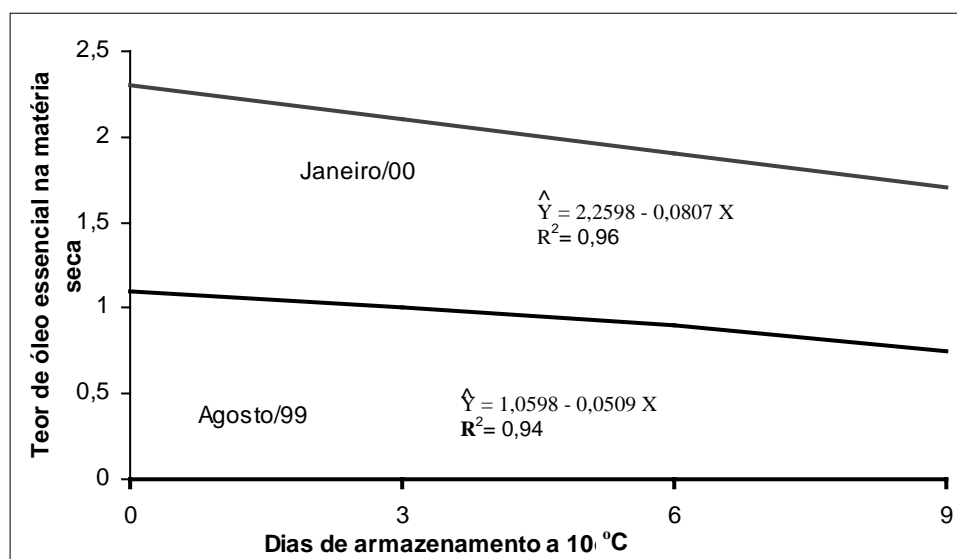


Figura 1 - Teor de óleo essencial na matéria seca de manjeriço colhido em agosto/99 e janeiro/00, em função dos dias de armazenamento a 10 °C, em embalagem de PVC. Viçosa, MG, 2000.

WEST (1990) verificou que espécies de *Mentha* pertencentes à família Lamiaceae, a mesma do manjeriço, armazenadas por longo tempo, sofreram mudanças na ultra-estrutura das glândulas, sendo a produção de óleo essencial reduzida.

SHALABY et al. (1988) também observaram variação no teor de óleo essencial de *Mentha arvensis* durante o período de armazenamento, sendo a maior variação detectada no teor de mentol, seu componente majoritário.

As plantas de manjeriço armazenam o óleo essencial em glândulas e tricomas superficiais (GONÇALVES, 2000), por isso, com o passar dos dias, pode ter ocorrido perda por volatilização, mesmo à baixa temperatura.

Os cromatogramas do óleo essencial das plantas de manjeriço indicam que não houve diferenças qualitativas nos componentes majoritários (Quadro 1, Figura 2).

Os resultados dos valores de clorofila evidenciam que, independentemente do mês de colheita, as plantas apresentaram redução no teor de clorofila em função dos dias de armazenamento do produto. A degradação de clorofila não diferiu entre os meses de colheita, ocorrendo queda linear de 0,4209 unidade Spad por dia de armazenamento (Figura 2).

Embora o teor de óleo essencial e os valores de clorofila nas plantas tenham diminuído durante o armazenamento, a análise visual indicou plantas túrgidas de boa qualidade (nota 1) para comercialização ao longo do período de armazenamento.

As plantas, independentemente do mês de colheita, receberam nota 1 até o sexto dia de armazenamento, o que significa plantas túrgidas com boa qualidade de comercialização. Entretanto, observou-se que, durante o intervalo de seis a nove dias, mais próximo do nono dia, as plantas visivelmente passavam a perder qualidade visual, e apareciam alguns sintomas de injúria, como lesões e escurecimento do tecido. Resultados semelhantes foram obtidos por CANTWELL e REID (1994), em manjeriço armazenado a 10 °C, que teve os primeiros sintomas de injúria por frio aos nove dias de armazenamento.

CANTWELL e REID (1994), avaliando a fisiologia pós-colheita de ervas frescas de manjeriço armazenado a 0, 10 e 20 °C, verificaram que a 10 °C o manjeriço mostrou melhor aparência visual, recebendo a nota 8, que significa boa qualidade; entretanto, a 0 °C, obteve a nota 2, pois apresentou injúria pelo frio; e a 20 °C, conceito 7, significando boa qualidade, porém com menor durabilidade.

Quadro 1 - Picos relacionados à composição química do óleo essencial de *Ocimum basilicum* L. (Figura 2) cultivado no Horto Medicinal da UFV. Viçosa, MG, 2000

Picos	Componentes
1	1,8-cineol
2	Linalol
3	4-terpineol
4	α -terpineol
5	Z-citral (neral)
6	E-citral (geranial)
7	Undecan-2-ona
8	Eugenol
9	Metil eugenol
10	α -bergamoteno
11	E- β -farneseno
12	N.I.
13	N.I.
14	N.I.
15	Torreiol (δ -cadinol)
16	Hexadecan-1-ol
17	N.I.
18	Ácido palmítico

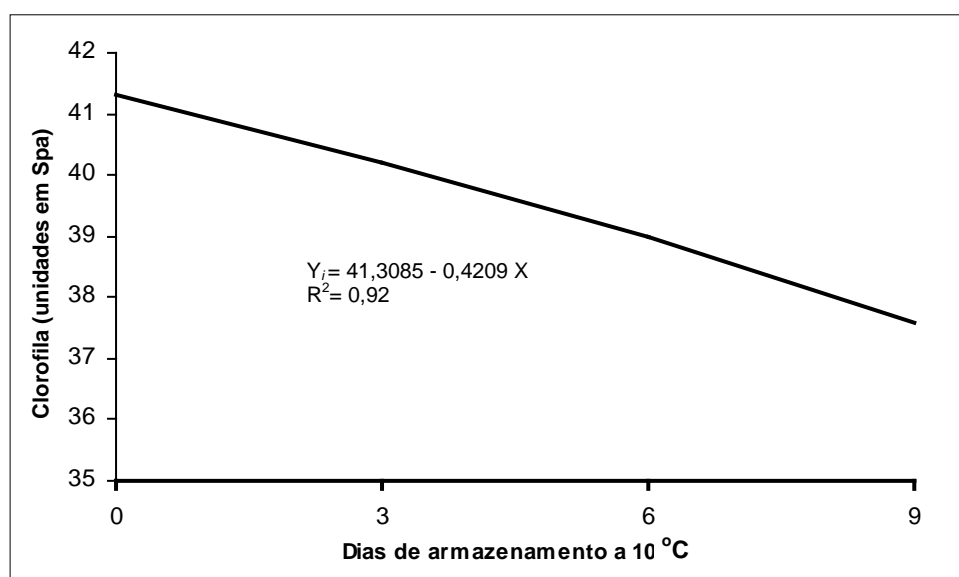


Figura 2 - Teor de clorofila em manjeriço armazenado a 10 °C por nove dias. Medidas em unidade Spad. Viçosa, MG, 2000.

A análise visual é subjetiva, mas de importância prática. Segundo KAYS (1991), o principal parâmetro indicativo de qualidade é a coloração, pois os consumidores já desenvolveram a relação entre a cor e a qualidade máxima do produto. Os resultados indicam falhas na subjetividade, pois bom aspecto visual estava associado ao menor teor de óleo essencial. Na análise visual não é perceptível o aroma das plantas, que está ligado a outro sentido, o olfato.

Apesar de as plantas permanecerem com coloração verde e aspecto visual de boa qualidade, o potencial medicinal pode ter sido comprometido, devido à diminuição do teor de óleo durante o armazenamento. Além de características ligadas à aparência, que são avaliadas diretamente pelo consumidor, existem outros fatores que determinam a qualidade do produto, estando relacionados com a composição química e a sua segurança (DURIGAN et al., 2000). Portanto, a perda no teor de óleo essencial nas plantas de manjeriço ao longo dos dias de armazenamento é uma informação importante ao consumidor. O produto, estando na prateleira do

supermercado e mesmo armazenado sob refrigeração, com o decorrer dos dias perde qualidade e deve ser consumido em maiores quantidades, visando ao efeito medicinal.

Utilizando a embalagem de PVC, chegou-se ao sexto dia mantendo a qualidade do produto. CANTWELL e REID (1994) citaram que a embalagem de PVC associada à temperatura de 10 °C amplia o período de comercialização do produto, pois estudos têm comprovado que o manjeriço, após a colheita, tem durabilidade inferior a três dias, pois é altamente perecível. Castellani et al. (1999), estudando alecrim e hortelã, verificaram que o uso de polietileno de baixa densidade, associado à temperatura de 7 °C, foi adequado à conservação do alecrim por 22 dias, mantendo as características iniciais de cor da planta. Entretanto, o mesmo não ocorreu com a hortelã, pois a referida embalagem acelerou o processo de degradação desta espécie, e em 14 dias as plantas perderam o padrão de comercialização.

4.2. Avaliação microbiológica

Verificou-se que, durante o período de armazenamento, o Número Mais Provável por grama do produto (NMP/g) no grupo microbiano coliformes totais e fecais permaneceu abaixo de 0,3 NMP/g e, no *S. aureus*, abaixo de 100 UFC/g, indicando baixa contaminação por microrganismos desses grupos. Não houve contaminação por coliformes fecais, que também apresentaram contagem de 0,3 NMP/g durante o período de armazenamento. Os resultados indicam produto em condições higiênico-sanitárias satisfatórias.

Os resultados indicam que as medidas de higiene adotadas na manipulação do produto, como uso de luvas, touca, avental e máscaras, foram adequadas no experimento e que a água utilizada na redução do calor de campo das amostras pode ter ajudado na limpeza superficial do produto. Tais fatores contribuíram para a qualidade inicial do produto, mantendo-a ao longo dos 12 dias de armazenamento.

Segundo FINGER e VIEIRA (1997), técnicas impróprias de processamento podem resultar em várias alterações nos vegetais, como ressecamento e oxidação, sendo o crescimento dependente da qualidade higiênica.

De acordo com CHAVES (1993), os coliformes não são patogênicos, mas são habitantes normais do trato intestinal do homem, eliminados nas fezes em grande número e podem ser encontrados em outros ambientes. O fato de as plantas não apresentarem contaminação por coliformes indica que a água de irrigação e do processo de lavagem não oferecem riscos de contaminação ou de doenças de origem bacteriana. O fato de utilizar irrigação por sulco também pode ter contribuído positivamente, pois a água é conduzida diretamente até as raízes, não havendo contato com as folhas.

De acordo com os resultados da Figura 3, houve decréscimo na contaminação de bolores e de leveduras durante os 12 dias de armazenamento.

A análise de regressão indicou a redução de 0,1291 ciclo logarítmico no número de bolores e leveduras, expressos em UFC/g do produto, a cada dia de armazenamento a 10 °C, em embalagem de PVC.

A Portaria nº 451 (BRASIL, 1995) não menciona o limite de contaminação por bolores e leveduras em plantas frescas. No entanto, na droga vegetal, segundo BRISTH (1996), a Farmacopéia Européia estabelece número inferior ou igual a 10⁴ fungos/ml.

O fato de ter ocorrido decréscimo (Figura 3) na contaminação por bolores e leveduras pode estar relacionado ao armazenamento à temperatura de 10 °C, associada à embalagem protetora.

Os microrganismos em baixa temperatura diminuem as suas atividades, impedindo, dessa forma, proliferação e as alterações causadas por eles nos alimentos. Alguns estudos têm evidenciado que a redução de 10 °C na temperatura do meio reduz em 50% o metabolismo da maioria dos microrganismos, ampliando o tempo de conservação dos alimentos (CHAVES, 1993).

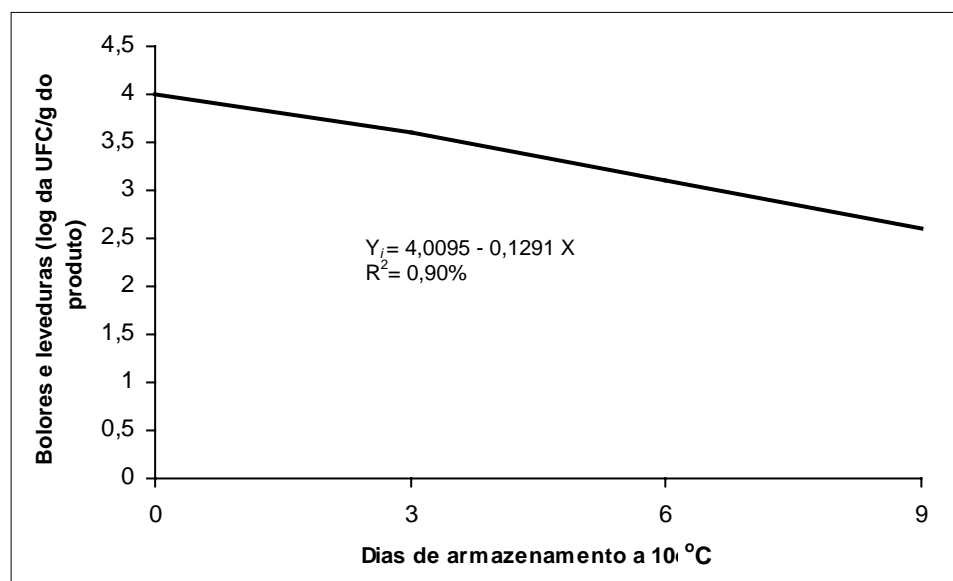


Figura 3 - Avaliação do número de UFC/g do produto ao longo de nove dias de armazenamento a 10 °C. Viçosa, MG.

Os microrganismos do processo respiratório consomem O₂ e liberam CO₂; no decorrer do armazenamento, ocorrem acúmulo do CO₂ e modificação da atmosfera. Conseqüentemente, o ambiente desfavorece o crescimento de microrganismos aeróbios estritos, como bolores e leveduras, que crescem em potencial redox positivo, utilizando o oxigênio como acceptor final de elétrons em sua cadeia respiratória. O mesmo não ocorre com os anaeróbios facultativos, como *Staphylococcus aureus*, que utilizam o oxigênio como acceptor final quando disponível; em sua ausência, uma diversidade de substâncias orgânicas e inorgânicas é utilizada. Entretanto, esse microrganismo foi ausente inicialmente no produto e ao longo de seu armazenamento.

Outro fator a ser considerado é a própria constituição química do óleo essencial. Observou-se que o componente majoritário do óleo

essencial é o eugenol, considerado antimicrobiano e que está presente ao longo do armazenamento (Figura 4).

BATISTA et al. (1998) avaliaram a eficácia dos óleos essenciais e de águas aromatizadas procedentes de algumas plantas medicinais, dentre elas *O. basilicum*, no controle de fungos de sementes de soja. Foi verificado que todas as espécies estudadas apresentaram redução no percentual de infecção de *Penicillium* sp., porém as águas aromatizadas ou hidrolato de *O. basilicum* e *Cymbopogon citratus* eliminaram totalmente esse patógeno das sementes.

A liberação do óleo essencial ao ambiente da embalagem pode ter reduzido seu teor nos tecidos do manjericão, ao mesmo tempo em que contribuiu para a redução da contaminação, pois o componente majoritário foi o eugenol, que tem atividade antimicrobiana.

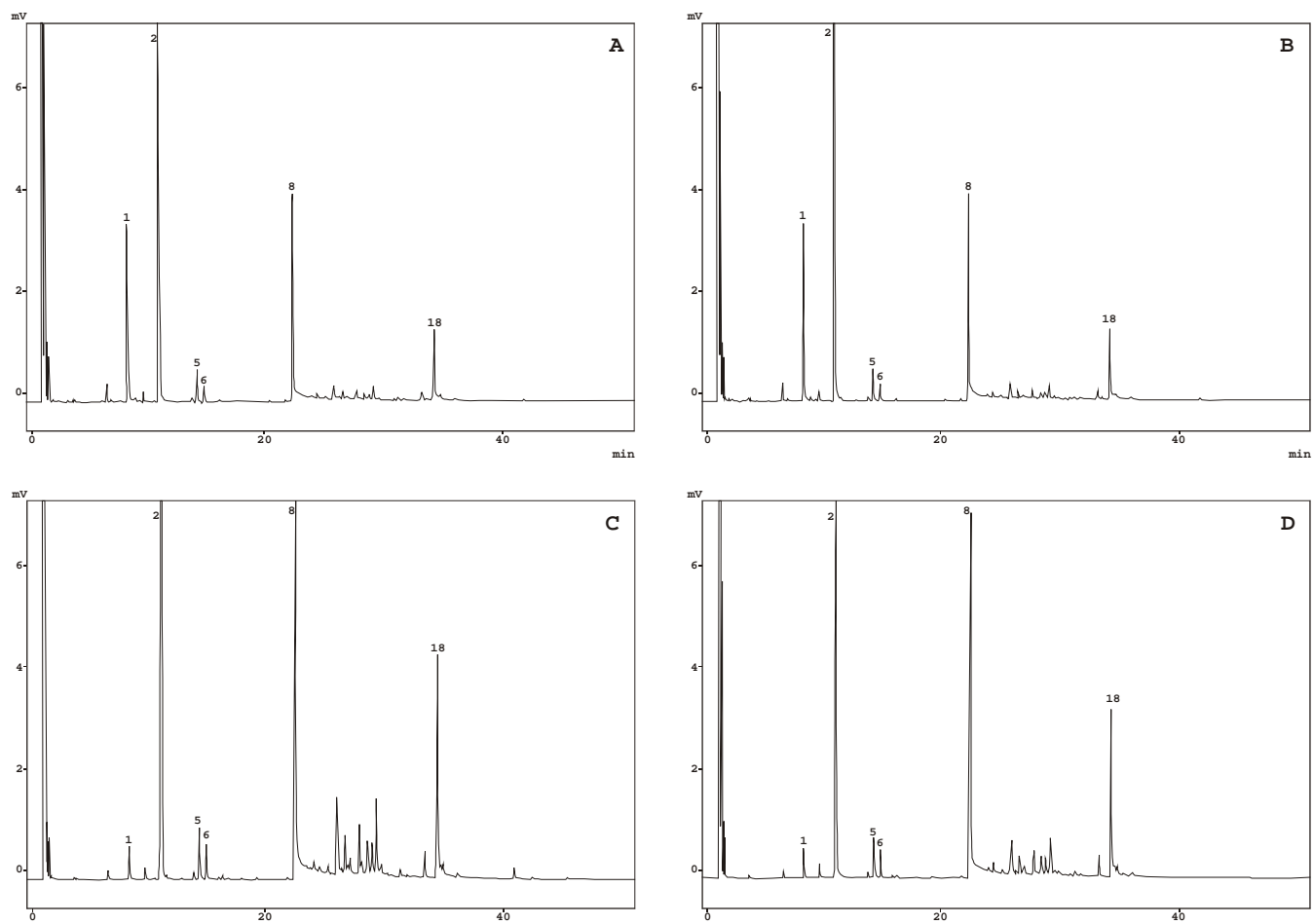


Figura 4 - Cromatograma do óleo essencial de manjeriç o armazenado: (A) 0 dia; (B) 3 dias; (C) 6 dias e (D) 9 dias, analisado por cromatografia em fase gasosa. Viçosa, MG, 2000.

5. CONCLUSÕES

- (1) O teor de óleo essencial na pós-colheita foi influenciado pela época de colheita e pelo tempo de armazenamento.
- (2) Não houve efeito significativo dos horários de colheita quanto ao teor de óleo essencial e à quantidade de clorofila.
- (3) Verificou-se redução nos teores de clorofila e de óleo essencial em função dos dias de armazenamento.
- (4) O processo de manipulação e conservação adotado foi eficiente em manter a qualidade microbiológica até nove dias após a colheita em embalagem de PVC sob 10 °C. O produto obtido encontrava-se em condições higiênico-sanitárias satisfatórias em relação a coliformes totais, fecais, *S.aureus*, bolores e leveduras. Em relação a bolores e leveduras, houve redução no número de UFC/g. O produto manteve a qualidade microbiológica, podendo ser consumido no prazo de nove dias.

RESUMO E CONCLUSÕES

O presente trabalho visou verificar a variação do teor e da composição química do óleo essencial de *Ocimum basilicum* L. em duas épocas e dois horários de colheita, bem como a conservação dessa espécie durante a pós-colheita.

O material experimental foi propagado vegetativamente, por meio de estacas de uma planta-matriz, oriunda da Horta da Universidade Federal de Viçosa (UFV), em Viçosa, MG. O plantio foi feito no Horto Medicinal da UFV, mantido de abril/99 a janeiro/00. A colheita foi realizada nos meses de agosto/99 e janeiro/00, às 8 e às 16 h. Após a colheita, as plantas foram higienizadas com água fria, depois foram embaladas em caixas de PVC e armazenadas a 10 °C em câmara fria.

Na avaliação do teor e da composição do óleo essencial, utilizaram-se o método de arraste a vapor e a cromatografia gasosa acoplada à espectrometria de massas (CG/MS). Verificou-se a influência dos fatores ambientais sobre o teor de óleo essencial, uma vez que nas plantas colhidas em janeiro/00, às 8 h, o teor de óleo essencial foi superior em relação ao teor obtido no mês de agosto. Portanto, o teor de óleo essencial reflete, dentre outras, as respostas fisiológicas da planta à variação do ambiente. Conforme o perfil cromatográfico, não houve modificação na composição química do óleo em razão das épocas e dos horários de

colheita, ressaltando-se que, nas duas épocas e nos dois horários, os componentes majoritários foram o eugenol e o linalol, respectivamente.

Nas avaliações de conservação do produto, quando se verificaram quantidade de clorofila, contaminação microbiológica, teor e composição do óleo essencial e se fez a avaliação visual, os dados foram coletados de três em três dias, durante os dias de armazenamento. Observou-se que a quantidade de clorofila e o teor de óleo essencial declinaram linearmente nas duas épocas do ano, mantendo-se inalterado com o horário de colheita. Apesar do declínio no teor e conteúdo de clorofila, o aspecto visual foi mantido ao longo do armazenamento. Pela análise microbiológica, as plantas estavam dentro dos padrões de *Staphylococcus aureus*, coliformes totais e fecais, bolores e leveduras. Houve redução no número de unidades formadoras de colônia por grama do produto, o que indica que a temperatura poderia estar adequada a esse produto, além do que o componente majoritário do óleo essencial era o eugenol, substância com reconhecido potencial antimicrobiano.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ADAMS, R.B. **Identification of essential oil componenets by gas chromatography/mass spectroscopy**. Ilionois: Allured Publ. Corp., Carol Stream, 1995. 468p.
- ALMASSY JÚNIOR, A. A. **O Programa Fitoverde e o Grupo Entre Folhas: a fitoterapia nas esferas governamentais e não-governamental**. Viçosa, MG: UFV, 2000. 124p. Dissertação (Mestrado em Extensão Rural) - Universidade Federal de Viçosa.
- ALMEIDA, V.P., FIGUEIREDO-RIBEIRO, C.L.F. Análise enzimática e quimiotaxomina de duas variedades de *Ocimum nardicaule*. **Revista Brasileira de Botânica**, v.9, p.75-80, 1986.
- AMARAL, C.L., OLIVEIRA, J.E.Z., CASALI, V.W.D. **Plantas medicinais e aromáticas: melhoramento genético**. Viçosa, MG: UFV – Departamento de Fitotecnia, 1999. 153p.
- AMARANTE, C.V.T. **Relação entre horário de colheita e senescência em folhas de couve (*Brassica oleracea* L. var. *acephala*)**. Viçosa, MG: UFV, 1991. 65p. Dissertação (Mestrado em Fisiologia Vegetal) – Universidade Federal de Viçosa.
- ANDRADE, F.M.C., CASALI, V.W.D. **Plantas medicinais e aromáticas: relação com o ambiente, colheita e metabolismo secundário**. Viçosa, MG: UFV – Departamento de Fitotecnia, 1999. 139p.
- ANUÁRIO ESTATÍSTICO DE MINAS GERAIS. Belo Horizonte: Fundação João Pinheiro, 1994, v.8.

- AZEVEDO, J.L., ROITMAN, I., TRAVASSOS, L.R. **Tratado de microbiologia**. São Paulo: Manole, 1988. v.1, 186p.
- BAETA, E.C.M.A., CASALI, V.W.D., PIMENTA, D.S., SCIO, E. Variação sazonal de componentes químicos de plantas medicinais da família Labitae. In: SEMINÁRIO MINEIRO DE PLANTAS MEDICINAIS, 2, Lavras,1996. **Anais...** Lavras, MG: UFLA, 1996. p.20.
- BARITAUX, O., RICHARD, H., TOUCHE, J. Effects of drying and storage of herbs and spices on the essential oil. Part I. Basil, *Ocimum basilicum* L. **Flavour and Fragrance Journal**, v.7, n.5, p.267-271, 1992.
- BASER, K.H.C. Industrial utilization of medicinal and aromatic plants. **Acta Horticulturae**, v.503, p.177-192, 1999.
- BATISTA, M.A., CUZ, M.E.S., INOUE, M.H. Eficácia das plantas medicinais *Ocimum basilicum*, *Lavandula officinalis*, *Cymbopogon citratus* e *Eucalyptos citriodora* no controle de fungos e sementes. In: SIMPÓSIO DE PLANTAS MEDICINAIS DO BRASIL,15, Águas de Lindóia, 1998. **Anais...** Águas de Lindóia, SP: [s. Ed.], 1998. p.114.
- BONNARDEAUX, J. The effect of different harvesting methods on the yield and quality of basil oil in the ord river irrigation area. **Journal of Essential Oil Research.**, v.4, n.1, p.65-72,1992.
- BRASIL. Ministério da Saúde. Secretaria de Vigilância Sanitária. Resolução RDC nº 17 de 24.02.00. Institui e normatiza o registro de medicamentos fitoterápicos junto ao Sistema de Vigilância Sanitária. **Diário Oficial da União**, 24 fev. 2000.
- BRASIL. Ministério da Saúde. Secretaria de Vigilância Sanitária. Portaria SVS nº 6 de 31.1.95. Institui e normatiza o registro de produtos fitoterápicos junto ao Sistema de Vigilância Sanitária. **Diário Oficial da União**, 31 de jan. 1995.
- BRISTH HERBAL PHARMACOPOEIA. 4.ed. Bouthermount: British Herbal Medicine Association, 1996.
- CAMPOS, M.T.F.S., COELHO, A.I.M., MENDES, A.C., DUARTE, L.C., MONÇÃO, C.P. **Práticas de higiene e manipulação de alimentos**. Viçosa, MG: UFV, 1999. 47p. (Boletim de Extensão, n.41).
- CANTWELL, M.I., REID, M.S. Postharvest physiology and handling of fresh culinary herbs. **Journal of Herbs, Spices & Medicinal Plants**, v.1, n.3, 1994.

- CARVALHO, L.M., CASALI, V.W.D. **Plantas medicinais e aromáticas: relações com luz, estresse e insetos.** Viçosa, MG: UFV – Departamento de Fitotecnia, 1999. 148p.
- CASTELLANI, D.C. **Crescimento, anatomia e produção de ácido erúico em *Tropaeolum majus* L.** Viçosa, MG: UFV, 1997. 108p. Dissertação (Mestrado em Fitotecnia) - Universidade Federal de Viçosa.
- CASTRO, D.M. **Caracterização Isozimática, da anatomia foliar, do óleo essencial e germinação de *Leonurus sibiricus* L.** Viçosa, MG: UFV, 1997. 97p. Dissertação (Mestrado em Fitotecnia) - Universidade Federal de Viçosa.
- CHARLES, D.J., SIMON, J.E. Comparison of extraction methods for the rapid determination of essential oil content and composition of basil. **Journal of the American Society for Horticultural Science**, v. 115, n.3, p. 458-462, 1990.
- CHAVES, J.B.P. **Noções de microbiologia e conservação de alimentos.** Viçosa, MG: UFV, 1993. 114p.
- CHITARRA, M.I.F., CHITARRA, A.B. **Pós-colheita de frutos e hortaliças: fisiologia e manuseio.** Lavras, MG: ESAL/FAEPE, 1990. 320p.
- CICOGNA JÚNIOR, O., MANCINI, B., JORGE NETO, J. Influência do tempo de destilação na composição quali e quantitativa de óleos essenciais. II-essências de cravo-da índia e capim limão. **Revista de Ciências Farmacêuticas**, v.8/9, p.173-181, 1986/1987.
- COLLINS, H.C., BRAGA, G.L., BONATO, P.S. **Introdução a métodos cromatográficos.** Campinas, MG: UNICAMP, 1997. 279p.
- CORREA JÚNIOR, C., MING, L.C., SCHEFFER, M.C. **Cultivo de plantas medicinais, condimentares e aromáticas.** 2.ed. Jaboticabal: FUNEP, 1994. 162p.
- COSTA, C.C., CASALI, V.W.D., ANDRADE, N.J. Avaliação da droga *Vernonia polyanthes* L. – “assa-peixe” obtida a partir de dois métodos de secagem e em duas épocas de coleta. **Revista Brasileira de Plantas Medicinais**, v.2, p.7-11, 1999.
- CRAVEIRO, A.A., FERNANDES, A.G., ANDRADE, C.H.S., MATOS, F.J.A., ALENCAR, J.W., MACHADO, M.I.L. **Óleos essenciais de plantas do Nordeste.** Fortaleza, CE: EUFC, 1981. 210p.

- CRESPO, M.E., JIMENEZ, J., NAVARRO, C. Special methods for the essential oils of the genus *Thymus*. In: LINSKENS, H.F., JACKSON, J.F. (Eds.). *Modern methods of plant analysis. New Series*, v.12, **Essential oils and waxes**. Berlin: Springer-Verlag, p.41-62,1991.
- CROTEAU, R. Biosynthesis and catabolism of monoterpenoids. **Chemical Review**, v.87, p. 929-954, 1987.
- CRUZ, M.E.S., BATISTA, M.A., INOUE, M.H., NOZAKI, M.H., FAGAN, C., TAGAMI, O.K. Influência de fatores climáticos no teor de óleo essencial de plantas medicinais. In: SIMPÓSIO DE PLANTAS MEDICINAIS DO BRASIL, 15, Águas de Lindóia, SP, 1998. **Anais...** Águas de Lindóia, SP, 1998. p.114.
- CURT, W.A., ROY, R.C., POCS, R. Effect of date on the yield and quality of the essential oil of peppermint. **Can. J. Plant Sci.**, v. 73, n.228, p.815-824, 1993.
- DALL' AGNOL, L., NASCIMENTO, T.S.R.S. Avaliação da qualidade microbiológica de plantas medicinais. In: SIMPÓSIO DE PLANTAS MEDICINAIS DO BRASIL, 15, Águas de Lindóia, SP, 1998. **Anais...** Águas de Lindóia, SP, 1998. 227p.
- DI STASI, L.C. **Plantas medicinais: arte e ciência – um guia de estudo interdisciplinar**. São Paulo, 1996. 230p.
- DURIGAN, J.F., CASSARO, K.P. Hortaliças minimamente processadas. **Horticultura Brasileira**, v.18, 2000. p.159-161. (suplemento).
- FALKENBERG, M.B., SANTOS, R.I., SIMÕES, C.M.O. Introdução à análise de fitoquímica. In: SIMÕES, C.M.O., SCHENKEL, E.P., GOSMANN, G., MELLO, J.C.P., MENTZ, L.A, PETROVICK, P.R. **Farmacognosia da planta ao medicamento**. Porto Alegre; Florianópolis: Ed. Universidade UFRGS; Ed. UFSC, 1999. 821p.
- FIGUEIREDO, R.O., MING, L.C., MACHADO, S.R., ANDRADE, R.M.C. Yield of essential oil and citral content in different parts of lemongrass leaves (*Cymbopogon citratus* (D.C.) Stapf.) Poaceae. **Acta Horticulturae**, v.426, p. 555-559, 1996.
- FINGER, F.L., VIEIRA, G. **Controle da perda pós-colheita de água em produtos hortícolas**. Viçosa, MG: UFV, 1997. 29p.
- GOKTE, N., MAHESHWARI, M.L., MATHUR, V.K. Nematicidal activity of new essential oils against root-knot and cyst nematode species. **Indian Journal of Nematology**, New Delhi, v.21, n.2, p.123-127, 1993.

- GONÇALVES, L. A. **Os tricomas glandulares de *Ocimum selloi* Benth. (Lamiaceae) e o desenvolvimento da espécie em dois níveis de radiação solar.** Viçosa, MG: UFV, 2000. 105p. Dissertação (Mestrado em Botânica) - Universidade Federal de Viçosa.
- GOTTLIEB, O.R., SALATINO, A. Função e evolução de óleos essenciais e de suas estruturas secretoras. **Ciência e Cultura**, v.39, n.8, p.707-716, 1987.
- GUPTA, R. Basil (*Ocimum* spp.). **G-15 Gene Banks for Medicinal & Aromatic Plants Newsletter**, n.5/6, p.1-3, 1994.
- HALVA, S., HUOPALAHTI, R., FRANZ, C., MAKINEN, S. Herb yield and essential oil of dill (*Anethum graveolens* L.) at different locations. **Journal of Agricultural Science in Finland**, v. 60, p. 93-100, 1988.
- HAY, R.K.M. Physiology. In: HAY, R.K.M., WATERMAN, P.G. **Volatile oil crops: their biology, biochemistry and production.** Essex: Longman Group, 1993. p.23-46.
- HERTWIG, V.I.F. **Plantas aromáticas e medicinais: plantio, colheita, secagem e comercialização.** São Paulo, SP: Ícone, 1986. 441p.
- HOSE, S., ZNGLEIN, A., BERG, T. Ontogenetic variation of the essential leaf oil of *Melissa officinalis* L. **Pharmazie**, v.52, n.3, p.247-253, 1997.
- JORGE, L.I.F., ROQUE, N.F., FERRO, V.O. *Ocimum micranthum* Willd-manjeriçãõ do Brasil: caracterizações histológica e química. **Rev. Inst. Adolfo Lutz**, v.52, n.1/2, p.47-50, 1992.
- KAMADA, T. **Plasticidade fenotípica da morfologia e do óleo essencial em acessos de manjeriçãõ (*Ocimum* spp.).** Viçosa, MG: UFV, 1998. 59p. Dissertação (Mestrado em Fitotecnia) - Universidade Federal de Viçosa.
- KAMADA, T., CASALI, V.W.D., BARBOSA, L.C.A., FORTES, I.C.P., FINGER, F.L. Plasticidade fenotípica do óleo essencial em acessos de manjeriçãõ (*Ocimum* spp.). **Revista Brasileira de Plantas Medicinai**s, v.1, n.2, p.13-22, 1999.
- KAYS, E.J. **Postharvest physiology of perishable plant products.** New York: AVI Book, 1991.532p.
- LANA, M.M., CASALI, V.W.D., FINGER, F.L., REIS, F.P. Avaliação da conservação pós-colheita de rizomas de gengibre. **Hort. Bras.**, v.11, n.2, p.139-141, 1993.

- LANGE, D.L., CAMERON, A.C. Postharvest shelf life of sweet basil (*Ocimum basilicum*). **HortScience**, v.29, n.2, p.102-104, 1994.
- LAWRENCE, B.M. Chemical componentes of labiatae oils and their explotation. In: HARLEY, R.M.; REYNOLDS, T. **Advances in labiatae science**. Kew: Royal Botanic Gardens, 1992. p.399-436.
- LEMBERKOVICS, E., PETRI, G., NGUYEN, H. Relationships between essencial oil and flavonoid biosynthesis in sweet basil.). **Acta Horticulturae**, v.426, p. 647-655, 1996.
- LI, Y., CRAKER, L.E. Effect of light level on essential oil production of sage (*Salvia officinalis*) and thyme (*Thymus vulgaris*). **Acta Horticulturae**, v. 426, p. 419-421, 1996.
- LOPES, R.C. **Caracterização isozimática, divergência genética e produção de óleo essencial em acessos de *Polygonum punctatum* Ell.** Viçosa, MG: UFV, 1997. 91p. Dissertação (Mestrado em Genética e Melhoramento) - Universidade Federal de Viçosa.
- LUENGO, R.F.A., LANA, M.M. **Processamento mínimo de hortaliças.** Brasília: CNPH, 1997. 4p. (Comunicado Técnico da EMBRAPA Hortaliças, 2).
- MANCINI, B. Influência do tempo de destilação na composição quali e quantitativa de óleos essenciais. I – essência de hortelã do Brasil. **Revista de Ciências Farmacêuticas**, v.6, p.1-7, 1984.
- MANN, J. **Secondary metabolism**. 2. ed. Oxford: Clarendon, 1987. 374p.
- MARANCA, G. **Plantas aromáticas na alimentação**, 2.ed. São Paulo: Edgard Blucher, 1986. 123p.
- MARTINS, E.R. **Morfologia interna e externa, caracterização isozimática e óleo essencial de *Ocimum selloi* Benth.** Viçosa, MG: UFV, 1996. 97p. Dissertação (Mestrado em Fitotecnia) - Universidade Federal de Viçosa.
- MARTINS, E.R., CASTRO, D.M., CASTELLANI, D.C., DIAS, J.E. **Plantas medicinais**. Viçosa, MG: UFV, 1994. 220p.
- MATOS, J.K.A. **Plantas medicinais: aspectos agronômicos**. Brasília, DF: 1996. 51p.

- MEIR, S., RONEN, R., LURIE, S., PHILOSOPH-HADAS, S. Assessment of chilling injury during storage: chlorophyll fluorescence characteristics of chilling-susceptible and triazole-induced chilling tolerant basil leaves. **Postharvest Biology and Technology**, v. 10, p. 213-220, 1997.
- MELO, J.T., CRUZEIRO, R.L.A. MACEDO, J.A.B., OLIVEIRA, M.G., TEXEIRA, J.B.P., BERALDO, A.F.C.A., CASTRO, O.F. Avaliação dos níveis de contaminação microbiológica ambiental das diversas áreas de produção do laboratório de fitoterápicos, do programa de plantas medicinais da Universidade Federal de Juiz de Fora. **Revista Brasileira de Plantas Mediciniais**, v.2, n.2, p.45-50, 2000.
- NOLASCO, F. **Deficiências nutricionais em manjeriço (*Ocimum* spp.) sob hidroponia**. Viçosa, MG: UFV, 1996, 19p. (Monografia).
- NTEZURUBANZA, L., SHEFFER, J.J.C., LOOMAN, A. Composition of essential oil of *Ocimum kilimandscharicum* grown in Ruanda. **Planta Medica**, v.50, n.5, p.385-388, 1984.
- NYKANEN, I. The effect of cultivation conditions on the composition of basil oil. **Flavour and Fragrance Journal**, v. 4, p. 125-128. 1989.
- OLIVEIRA, A.B., SHAAT, V.T., OLIVEIRA, G.G. Síntese de derivados do eugenol com ação biológica. In: SIMPÓSIO DE PLANTAS MEDICINAIS DO BRASIL, 1978, São Paulo. **Anais...** São Paulo: SBPC, 1978. v.32, p.130-134. (suplemento).
- OLIVEIRA, J.E.Z. **Variabilidade isozimática e do teor de óleo essencial em acessos de *Bidens pilosa* L.** Viçosa, MG: UFV, 1997. 72p. Dissertação (Mestrado em Genética e Melhoramento) - Universidade Federal de Viçosa.
- PEREZ, A.M.J., VELASCO, N.A., DURU, M.E. Composition of the essential oils of *Ocimum basilicum* var. *glabratum* and *Rosmarinus officinalis* from Turkey. **Journal of Essential Oil Research**, v.7, n.1, p.73-75, 1995.
- PETROPOULOS, G., VLACHOU, A.M. GLC analysis and comparison of flavour of different populations of basil. In: **Food flavours: generation, analysis and process influence.[s.l.:s.n.t.]**, 1995. p. 849-855.
- PETROV, V. Bulgária: a tradição vence o tempo. **O correio da UNESCO**, v.7, n.9, p.39-41, 1979.

- PHILOSOPH-HADAS, S., MEIR, S., AKIRI, B., KANNER, J. Oxidative defense systems in leaves of three edible herbs species in relation to their senescence rates. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v.42, p. 2376-2381, 1994.
- RANDHAWA, G.S., SINGH, A. Effect of sowing time and harvesting stage on oil content, herbage and oil yield of dill (*Anethum graveolens* L.). **Indian Perfumer**, v. 35, p. 204-208, 1991.
- RAO, C.P., SINGH, M., SINGH, H.N. Fungitoxic evaluation of essential oils extracted from higher plants against some sugarcane pathogens in vitro. **Tropical Science**, v.32, n.4, p.377-382, 1992.
- ROBBERS, J.E., SPLEDIE, M.K., TYLER, V.E. **Pharmacognosy and pharmacobiotechnology**. Baltimore: William e Wilkins, 1996.
- SANKAT, C.K., MAHARAJ, V. Shelf life of the green herb 'shado beni' (*Eryngium foetidum* L.) stored under refrigerated conditions. **Postharvest Biology and Technology**, v. 7, p. 109-118, 1996.
- SANTOS, R.I. Metabolismo básico de origem dos metabólitos secundários. In: SIMÕES, C.M.O., SCHENKEL, E.P., GOSMANN, G., MELLO, J.C.P., MENTZ, L.A, PETROVICK, P.R. **Farmacognosia da planta ao medicamento**. Porto Alegre; Florianópolis: Ed. Universidade UFRGS; Ed. UFSC; 1999. 821p.
- SCHEFFER, M.C. Estudo de aspectos agronômicos das plantas medicinais selecionadas pela fitoterapia do SUS-PR/CEMEPAR. **Informa**, v.10, p.29-31, 1991.
- SCHUMAUS, G., KUBECZKA, K.H. The influence of isolation conditions on the composition of essential oils containing linalool and linalyl acetate. In: BAERHEIM SVENDSEN, A., SCHEFFER, J.J.C. **Essential oils and aromatic plants**. Dordrecht: Nijhoff/Dr.Junk, 1985. p.127-134.
- SHALABY, A.S., EL-GAMASY, A.M., EL-GENGAIHI, S.E., KHATTAB, M.D. Post harvest studies on herb and oil of *Mentha arvensis* L. **Egypt. J. Hort.**, v.15, n.2, p.213-224, 1988.
- SILVA, B.M., MARQUES, E.V. **As essências florais de minas, síntese para uma medicina de almas**. Belo Horizonte: Editora Luz Azul, 1997. 301p.
- SILVA, F., CASALI, V.W.D., LIMA, R.R., ANDRADE, N.J. Qualidade pós colheita de *Achillea millefolium* L., *Origanum vulgare* L. e *Petroselinum crispum* (miller) A.W.Hill em três embalagens. **Revista Brasileira de Plantas Mediciniais**, v.2, n.1, p. 37-41, 1999.

- SILVA, F., CASALI, V.W.D. **Plantas medicinais e aromáticas: pós-colheita e óleos essenciais**. 2.ed. Viçosa, MG: UFV, Departamento de Fitotecnia, 2000. 153p.
- SIMÕES, C.M.O., SPITZER, V. **Óleos voláteis**. In: SIMÕES, C. M. O., SCHENKEL, E. P., GOSMANN, G., MELLO, J.C.P., MENTZ, L.A., PETROVICK, P. R. **Farmacognosia da planta ao medicamento**. Porto Alegre; Florianópolis: Ed. Universidade UFRGS; Ed. da UFSC, 1999. 821p.
- TAIZ, L., ZEIGER, E. **Plant physiology**. 2.ed. Massachusetts: Sinauer Associates, Inc., Publishers, Sunderland, 1998. 792p.
- TEIXEIRA, J.P.F., MARQUES, M.O.M., FURLAN, P.R., FACANALLI, R. Óleo essencial de duas variedades de manjeriçao em cultivo hidropônico. **Horticultura Brasileira**, v.18, p.982-983, 2000. (suplemento).
- UNDERHILL, S.J.R., CRITCHLEY, C. Cellular localization of polyphenol oxidase and peroxidase activity in *Litchi chinensis* Sonn. Pericarp. **Australian Journal of Plant Physiology**, v. 22, p.627-632, 1995.
- VASCONCELOS SILVA, M.G., CRAVEIRO, A.A., MATOS, F.J.A., MACHADO, M.I.L., ALENCAR, J.W. Chemical variation during daytime of constituents of the essential oil of *Ocimum gratissimum* leaves. **Fitoterapia**, v.70, p.32-34, 1999.
- VERLET, N. Overview of the essential oils economy. **Acta Horticulturae**, v.333, p. 65-67, 1993.
- WATERMAN, P.G. The chemistry of volatile oils. In: HAY, R.K.M., WATERMAN, P.G. (Eds). **Volatile oil crops: their biology, biochemistry and production**. Harlow: longman Scientific, Technical, 1993. 185p.
- WEST, C.A. Terpene biosynthesis and metabolism. In: DENNIS, D.T., TURPIN, D.H. (Eds). **Plant Physiology, Biochemistry and Molecular Biology**. London: [s. Ed.], 1990. p. 353-370.
- WESTON, L.A., BARTH, M.M. Preharvest factors affecting postharvest quality of vegetables. **HortScience**, v.32, n.5, p. 812-816, 1997.
- WHO. Quality control methods for medicinal plant materials. **WHO/PHAM/92.559**, 1992.
- WINK, M. Physiology of secondary product formation in plants. In: CHARLWOOD, B.V., RHODES, M.J.C. **Secondary products from plant tissue culture**. Oxford: Clarendon, 1990.

ANEXOS

Quadro 1 - Resumo da análise de variância das características avaliadas no experimento com manjericão

		QM	
FV	GL	Óleo	Clorofila
Época (E)	1	13,6335**	
Hora (H)	1	0,3195 ^{ns}	
E x H	1	0,8582**	
Res(a)	8	0,0750	
(Parcela)	(11)		
Tempo(T)	3	0,7903**	34,4096**
E x T	3	0,06952*	3,5233 ^{ns}
H x T	3	0,3066 ^{ns}	6,2829 ^{ns}
E x H x T	3	0,0355 ^{ns}	12,1402 ^{ns}
Res(b)	24	0,0209	6,2326
Total	47		
CV da parcela (%)		20,08	6,44
CV da subparcela(%)		10,60	6,33

^{ns} não-significativo a 5% de probabilidade, pelo teste F.

** significativo a 1% de probabilidade, pelo teste F.

* significativo a 5% de probabilidade, pelo teste F.

Quadro 2 - Análise de variância, referente ao desdobramento da época do ano dentro do horário de colheita, da variável teor de óleo essencial de manjeriçã (g/m.s.)

FV	GL	QM
E (Manhã)	1	10,6677**
E (Tarde)	1	3,8260**
Erro(a)	8	0,0749

^{ns} não-significativo a 5% de probabilidade, pelo teste F.

** significativo a 1% de probabilidade, pelo teste F.

Quadro 3 - Análise de variância, referente ao desdobramento do horário de colheita dentro de época do ano, da variável teor de óleo essencial de manjeriçã (g/m.s.)

FV	GL	QM
H (E1)	1	0,0652 ^{ns}
H (E2)	1	1,1125**
Erro(a)	8	0,7499

^{ns} não-significativo a 5% de probabilidade, pelo teste F.

** significativo a 1% de probabilidade, pelo teste F.

Quadro 4 - Análise de variância do desdobramento de época do ano dentro de cada tempo de armazenamento, a 10 °C, do manjeriçã

FV	GL	QM
E (T0)	1	3,6681**
E (T3)	1	4,6049**
E (T6)	1	3,2907**
E (T9)	1	2,2804**
Erro*	21	0,0344

Erro* = $\frac{QMR(a) + (n-1) QMR(b)}{n}$.

n

Quadro 5 - Análise de variância da regressão do óleo essencial de manjeriço, em função dos dias de armazenamento a 10 °C, referente à época 1 de colheita

FV	GL	QM
Regressão 1 ^o grau	1	0,7007**
Falta de ajustamento	2	0,0214 ^{ns}
Tempo (E1)	3	
Erro (b)	24	0,0209

^{ns} não-significativo a 5% de probabilidade, pelo teste F.

** significativo a 1% de probabilidade, pelo teste F.

Equação de regressão do óleo essencial de manjeriço, em função dos dias de armazenamento a 10 °C, referente à época 1 de colheita:

$$\hat{Y} = 1,0598 - 0,0509 X_i$$

$$R^2 = 0,94$$

Quadro 6 – Análise de variância da regressão do óleo essencial de manjeriço, em função dos dias de armazenamento a 10 °C, referente a época 2 de colheita

FV	GL	QM
Regressão 1 ^o grau	1	1,7592**
Falta de ajustamento	2	0,0383 ^{ns}
Tempo (E2)	3	
Erro (b)	24	0,0209

^{ns} não-significativo a 5% de probabilidade, pelo teste F.

** significativo a 1% de probabilidade, pelo teste F.

Equação de regressão do óleo essencial de manjeriço, em função dos dias de armazenamento a 10 °C, referente à época 2 de colheita:

$$\hat{Y} = 2,2598 - 0,0807 X_i$$

$$R^2 = 0,96$$

Quadro 7 - Análise de regressão do teor de clorofila de manjericão, em função dos dias de armazenamento a 10 °C, referente à época 1 de colheita

FV	GL	QM
Regressão 1 ^o grau	1	95,6722**
Falta de ajustamento	2	3,7786 ^{ns}
Tempo	3	
Erro (b)	24	6,2326

^{ns} não-significativo a 5% de probabilidade, pelo teste F.

** significativo a 1% de probabilidade, pelo teste F.

Equação de regressão do teor de clorofila de manjericão, em função dos dias de armazenamento a 10 °C, referente à época 1 de colheita:

$$\hat{Y} = 41,3085 - 0,4209X_i$$

$$R^2 = 0,93$$

Quadro 8 - Análise de regressão de fungos, bolores e leveduras (UFC/g do produto) no manjericão, em função dos nove dias de armazenamento a 10 °C

FV	GL	QM
Regressão 1 ^o grau	1	84,800**
Falta de ajustamento	2	3,070 ^{ns}
Tempo	3	
Erro (b)	24	5,3048

^{ns} não-significativo a 5% de probabilidade, pelo teste F.

** significativo a 1% de probabilidade, pelo teste F.

Equação de regressão do teor de fungos, bolores e leveduras no manjericão, em função dos nove dias de armazenamento a 10 °C:

$$\hat{Y} = 4,0095 - 0,1291X_i$$

$$R^2 = 0,90$$