

EFEITO DA TEMPERATURA DO AR DE SECAGEM SOBRE O TEOR E A COMPOSIÇÃO QUÍMICA DO ÓLEO ESSENCIAL DE *Pectis brevipedunculata*

Marcia Terezinha Ramos de Oliveira* e Pedro Amorim Berbert

Laboratório de Engenharia Agrícola, Universidade Estadual do Norte Fluminense Darcy Ribeiro, Av. Alberto Lamego, 2000, 28013-602 Campos dos Goytacazes – RJ, Brasil

Carlos Roberto Ribeiro Matos, Leda Mathias e Rafaela Oliveira Moreira

Laboratório de Química, Universidade Estadual do Norte Fluminense Darcy Ribeiro, Av. Alberto Lamego, 2000, 28013-602 Campos dos Goytacazes – RJ, Brasil

Recebido em 24/11/10; aceito em 21/2/11; publicado na web em 12/5/11

EFFECT OF DRYING-AIR TEMPERATURE ON CONTENT AND CHEMICAL COMPOSITION OF THE ESSENTIAL OIL OF *Pectis brevipedunculata*. Leaves and flower heads of *P. brevipedunculata* were submitted to four drying-air temperatures (room temperature, 40, 50 and 60 °C). Room temperature (approximately 30 °C) and higher temperature drying (50 and 60 °C) had a deleterious effect on the essential oil content. The recommended drying-air temperature for the species is 40 °C for it results in the same amount of essential oil observed in fresh cut plants. Overall, 13 components accounting for more than 92% of the total composition were identified. Citral was the major component, followed by α -pinene and limonene. The essential oil showed high toxicity against *Artemia salina* larvae.

Keywords: *Pectis brevipedunculata*; lemon-scented grass; citral.

INTRODUÇÃO

A família Asteraceae compreende 1.100 gêneros e cerca de 25.000 espécies que podem ser encontradas com frequência em regiões tropicais, subtropicais e temperadas, tanto ao nível do mar, como em montanhas, mas, na maioria das vezes, ocorrem em terrenos arenosos e rochosos.¹ A espécie *Pectis brevipedunculata* (Gardner) Sch. Bip., família Asteraceae e subfamília Asteroideae, é uma planta de porte pequeno, rica em óleo essencial e nativa de ambiente xerófilo. No município de Campos dos Goytacazes, RJ, esta espécie surge espontaneamente em gramados, terrenos sem uso e em campos não cultivados. Sua ocorrência foi também registrada na restinga de Carapebus, RJ, e nas regiões do alto e médio Araguaia, MS, o que, neste último caso, não coincide com outros levantamentos florísticos de ambientes alagados.²

Estudos sobre a composição química dos óleos essenciais das partes aéreas de outras espécies do gênero *Pectis*, *P. apodocephala* e *P. oligocephala* mostraram a presença de monoterpêneos. Ambos foram testados em juvenis de segundo estágio recém-eclodidos (J2) do nematoide *Meloidogyne incognita* e em larvas do terceiro instar do mosquito *Aedes aegypti*. Os resultados mostraram que os óleos podem ser considerados potenciais agentes nematocida e larvicida naturais.³ O estudo comparativo do óleo essencial de três espécimens de *P. brevipedunculata* coletadas em três estados diferentes, Rio de Janeiro, Espírito Santo e Ceará, mostrou que os componentes majoritários são neral, geranial e limoneno.¹

Levantamentos preliminares feitos pelos autores revelaram que, em Campos dos Goytacazes, o chá da parte aérea de *P. brevipedunculata* é comumente usado pela população buscando efeito calmante. Ações calmantes e espasmódicas suaves são atribuídas ao citral que, de acordo com a literatura, é o principal componente da *P. brevipedunculata*.⁴

O estudo de plantas medicinais raras ou pouco conhecidas está sendo novamente considerado de alta relevância, devido à redescoberta de que o elo existente entre plantas e saúde humana tem sido responsável pelo lançamento de uma nova geração de produtos terapêuticos baseados no uso de insumos vegetais, o que inclui medicamentos fitoterápicos, drogas botânicas baseadas em sistemas multicomponentes, suplementos dietéticos e alimentos funcionais.⁵

A produção de drogas vegetais preconiza a observação de uma série de cuidados durante o processamento e entre eles incluem-se a secagem, o tipo de fragmentação mecânica e as condições de armazenamento.⁶ Na maioria dos casos, a secagem deve ser realizada imediatamente após a colheita, minimizando com isso as perdas de substâncias farmacológicas ativas que ocorrem devido à degradação enzimática associada à presença de água. Além disso, teores de água elevados favorecem o desenvolvimento de micro-organismos, comprometendo a qualidade do produto. A secagem permite também o armazenamento do produto por períodos prolongados e facilita seu transporte, contribuindo para regular a oferta e comercialização de plantas.⁷

No entanto, a secagem por convecção de plantas que contenham óleos essenciais sempre envolve determinado nível de risco, pois a fonte de calor utilizada e o consequente aumento na temperatura do ar de secagem podem interferir nos perfis da taxa de evaporação. A secagem realizada de forma inapropriada pode resultar na perda de componentes voláteis e reduzir tanto o valor terapêutico de determinada planta como a quantidade e qualidade de seu óleo essencial.

Considerando o uso potencial de *P. brevipedunculata* como medicinal e agente bioativo, o presente trabalho teve como objetivo avaliar o efeito da temperatura do ar de secagem no teor, composição e atividade citotóxica do óleo essencial dessa espécie, buscando as condições de secagem que preservem as características químicas e biológicas do óleo essencial.

*e-mail: maroli@uenf.br

PARTE EXPERIMENTAL

Coleta

O material vegetal foi coletado na área experimental do *campus* da Universidade Estadual do Norte Fluminense Darcy Ribeiro (UENF), em Campos dos Goytacazes, RJ, onde a espécie ocorre espontaneamente. A coleta do material vegetal foi realizada em março de 2010, pela manhã, entre 7 e 8 h. Foram coletados aproximadamente 10 kg da parte aérea das plantas, utilizando tesoura de lâminas de aço inoxidável. Logo depois de colhido, o material foi transportado para o Laboratório de Engenharia Agrícola (LEAG), onde passou por limpeza e seleção manual, excluindo-se as partes atacadas por doenças ou pragas, qualquer outro vegetal ou material estranho, como também as partes velhas e secas. As folhas e capítulos florais foram separados manualmente das hastes, sendo posteriormente homogeneizados e acondicionados em frascos de vidro de 3.275 mL. Os frascos contendo o material vegetal foram fechados e vedados com Parafilm e armazenados em câmara do tipo B.O.D., a 10 ± 1 °C, de 18 h até 7 h e 30 min do dia seguinte. Os frascos foram então retirados do ambiente refrigerado e permaneceram sobre bancada por cerca de 2 h, para que o material vegetal entrasse em equilíbrio com a temperatura ambiente, quando teve início o processo de secagem.

Secagem

Para avaliar a influência da temperatura do ar de secagem sobre o teor e a composição do óleo essencial das folhas e capítulos florais de *P. brevipedunculata* empregou-se um secador de leito fixo, capaz de fornecer o ar de secagem em condições controladas de vazão e temperatura. O secador possui um ventilador centrífugo de 1,0 cv, um conjunto de resistências elétricas para aquecimento do ar, um inversor de frequência para alterar e controlar a rotação do motor do ventilador, um controlador de temperatura com microprocessador N 480, uma câmara *plenum* e um conjunto de esferas de vidro para diminuir a turbulência e uniformizar a velocidade do ar antes de sua entrada na câmara de secagem. O secador foi fabricado com paredes duplas de chapa de aço galvanizado, preenchidas com lã-de-vidro em toda sua extensão a partir da seção de aquecimento do ar. A câmara de secagem é composta por três bandejas circulares de 23 cm de d.i. e 5 cm de altura, com fundo de chapa de aço inoxidável perfurada. Cada bandeja foi preenchida com 100 g do material vegetal, perfazendo uma camada de cerca de 4 cm de espessura.

Os testes foram realizados empregando-se um único nível de velocidade do ar de secagem ($0,5 \text{ m s}^{-1}$) e quatro níveis de temperatura (ambiente, 40, 50 e 60 °C). A redução do teor de água das amostras foi monitorada por gravimetria, pesando-se o conjunto bandeja-amostra em intervalos regulares de 5 min nos primeiros 30 min, de 10 min até 120 min, de 15 min até 180 min e de 30 min a partir de 180 min, utilizando-se balança digital com grau de acurácia de 0,01 g, até que o material atingisse teor de água final de aproximadamente 10% (base úmida).

A velocidade do ar de secagem foi medida utilizando-se anemômetro de pás rotativas Airflow, posicionado na saída de cada uma das bandejas do secador. As leituras de velocidade e temperatura foram registradas ao final de cada pesagem. A temperatura do ar de secagem foi medida utilizando-se um termômetro de mercúrio, com divisão da escala igual a 1 °C, que foi colocado logo abaixo da câmara de secagem. Terminada a secagem, parte da amostra foi utilizada para determinação do teor de água final utilizando-se o método padrão e a outra parte foi utilizada para extração do óleo essencial.

Determinação do teor de água

A determinação do teor de água foi realizada antes e depois de cada teste de secagem e antes de cada extração, utilizando balança digital com grau de acurácia de 0,1 mg. Esse procedimento foi realizado em estufa de circulação forçada de ar, marca Binder, modelo FED 240, a 103 ± 1 °C por 24 h, de acordo com as especificações da Norma S358.2 proposta pela ASAE.⁸

Obtenção do óleo essencial

Utilizou-se destilador para óleos essenciais do tipo Clevenger (Marconi, modelo MA-553/2000), adaptado a um balão de fundo chato de 5.000 mL.⁹ O tempo de extração foi de 90 min, contado a partir do início da condensação. O óleo foi coletado com pipeta e a massa foi determinada em balança analítica com precisão de 0,1 mg; as amostras foram armazenadas em freezer a -20 °C até o momento das análises.

Análises químicas

A análise do óleo essencial foi feita por meio de cromatografia em fase gasosa acoplada ao espectrômetro de massas (CG-EM), por espectroscopia de ressonância magnética nuclear de carbono-13 (RMN ¹³C) e por espectroscopia no infravermelho (IV). Na análise por meio de CG-EM utilizou-se aparelho Shimadzu – QP 5050 com coinjeção de padrão de hidrocarbonetos (C10 a C40). Para a identificação dos constituintes, foi empregada coluna capilar de sílica fundida DB-5, com 30 m de comprimento, d.i. de 0,25 mm, filme de 0,25 µm e gás carreador hélio. As condições de operação foram: pressão interna de 20,0 kPa, razão de *split* de 1:47, com fluxo de gás de 0,7 mL min⁻¹, com temperatura programada inicial de 35 °C, taxa de aquecimento de 4 °C min⁻¹ até 180 °C, e 10 °C min⁻¹ de 180 até 250 °C; a temperatura do injetor foi de 250 °C e, na interfase, de 280 °C. As condições do espectrômetro de massas foram aquisição no modo *scan*, feita com tempo de aquisição de 45 min e corte do solvente em 3,5 min. A faixa de fragmentos detectados foi de 50 a 350 Daltons, com o detector de captura iônica operando por impacto eletrônico de 70 eV. Foi injetado 1 µL de cada amostra preparada com diluição de 12000 ppm, dissolvida em hexano, secas com sulfato de sódio anidro e filtradas. Os espectros obtidos foram comparados com a biblioteca de espectros de massas do equipamento de CG-EM.¹⁰ Os índices de Kovats foram calculados utilizando o padrão de hidrocarbonetos.¹¹

Na análise por meio da espectroscopia de RMN ¹³C utilizou-se espectrômetro Jeol Eclipse+, operando em frequência de 400 MHz para hidrogênio e em 100 MHz para carbono-13, clorofórmio deuterado (CDCl₃) como solvente e tetrametilsilano (TMS) como referência interna.

Na análise por meio de espectroscopia na região do IV, as amostras foram preparadas em filme na pastilha de KBr, utilizando-se espectrofotômetro Shimadzu IRA ffinity-1.

Bioensaio de letalidade contra larvas de *Artemia salina* Leach

Para estabelecer a toxicidade do óleo essencial de *P. brevipedunculata* utilizou-se o ensaio de letalidade com o microcrustáceo *Artemia salina* Leach, que, por sua praticidade e simplicidade, tem utilização sistemática em laboratórios de pesquisa, com a vantagem de apresentar baixo custo, rapidez e não exigir técnicas assépticas.¹² As análises foram realizadas no Laboratório de Química de Produtos Naturais, LCQUI-UENF. Os ovos de *Artemia salina* foram colocados em um pequeno tanque contendo água do mar coletada

na praia de Grussaí, município de São João da Barra, RJ. O tanque é dividido em dois compartimentos, com um dos lados coberto. Uma lâmpada de 40 W foi posicionada acima do lado aberto do tanque para atrair os nauplios. Depois de 48 h, os nauplios foram utilizados no bioensaio.

As amostras foram preparadas dissolvendo-se 50 mg de óleo essencial de dois tratamentos (planta *in natura* e secas a 40 °C), e diluídas em um volume de 5 mL de H₂O:DMSO (3:2 v/v). Nos tubos de ensaio foram adicionadas alíquotas de 5, 10, 25, 50 e 100 µL da solução anterior, que foram diluídas a um volume final de 5 mL com água do mar. As concentrações finais foram 10, 20, 50, 100 e 200 µg mL⁻¹.

Para o controle positivo foram utilizadas soluções de dicromato de potássio (K₂Cr₂O₇), nas mesmas concentrações das amostras. Para o controle negativo foi utilizado o sistema de solventes H₂O:DMSO (3:2), a uma concentração de 200 µg mL⁻¹. Na avaliação do grau de toxicidade, 15 larvas recém-eclodidas de *Artemia salina* foram colocadas em cada um dos três tubos de ensaio contendo as soluções solubilizadas de óleo essencial e água do mar nas concentrações descritas. As análises foram realizadas em triplicata. Os tubos de ensaio foram mantidos sob iluminação e as larvas sobreviventes foram contadas após 24 h. Os valores de DL₅₀ foram calculados empregando-se o programa Finney Probit que determinou a dose letal para 50% da população de microcrustáceos.

Delineamento experimental e análise estatística

Foi utilizado o delineamento experimental inteiramente casualizado, com três repetições para cada temperatura do ar de secagem. Foram realizadas análise estatísticas de variância e testes de comparação de médias (Tukey), usando o programa para análise estatística SAEG®.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

As folhas e capítulos florais de *P. brevipedunculata* foram secos até atingirem teor de água de aproximadamente 10% b.u. (base úmida), valor que está de acordo com o recomendado por diferentes farmacopeias, ou seja, entre 8 e 14% b.u.¹³ A secagem à temperatura ambiente (29,7 ± 1 °C) teve duração de 5100 min. Quando se utilizou ar aquecido os períodos de secagem foram de 720, 120 e 50 min para as temperaturas de 40, 50 e 60 °C, respectivamente. Observou-se que o tempo de secagem na temperatura ambiente foi significativamente maior que os valores observados nos tratamentos que usaram ar aquecido. Esse longo tempo de secagem aumenta consideravelmente o risco de desenvolvimento de micro-organismos no material vegetal e de degradação de componentes do óleo essencial, além da possível perda do óleo essencial por volatilização natural.

Apresentam-se, na Figura 1, o teor de óleo essencial das folhas e capítulos florais de *P. brevipedunculata* para cada um dos tratamentos utilizados. Na planta *in natura*, o teor de óleo essencial foi de 0,96%, em relação à massa de matéria seca. Nas plantas secas à temperatura ambiente, 40, 50 e 60 °C, os valores correspondentes foram 0,36; 0,94; 0,29 e 0,17%, respectivamente. Observa-se que dentre os tratamentos de secagem, somente aquele realizado a 40 °C apresentou rendimento de óleo essencial estatisticamente igual àquele da planta *in natura*. Os demais tratamentos apresentaram rendimentos consideravelmente menores e estatisticamente iguais, com reduções de 63 a 82%. Essas reduções podem ser atribuídas à volatilização de parte do óleo essencial durante o processo de secagem sob temperaturas mais altas (50 e 60 °C) e a longa duração da secagem à temperatura ambiente (5100 min), visto que o óleo essencial, nesta espécie, é armazenado em cavidades subepidérmicas,

próximas à superfície e associadas a processos de excreção.¹⁴ Os resultados obtidos no presente trabalho estão de acordo com estudos realizados com diferentes espécies medicinais, que também mostraram que o aumento na temperatura do ar de secagem causa considerável redução no teor de óleo essencial.^{4,15,16} Ressalta-se que o teor de óleo essencial obtido para outras espécies medicinais que apresentam como principal componente o citral,^{15,17} variou entre 0,1 e 0,6%, ou seja, valores inferiores aos relatados no presente trabalho (0,9%).

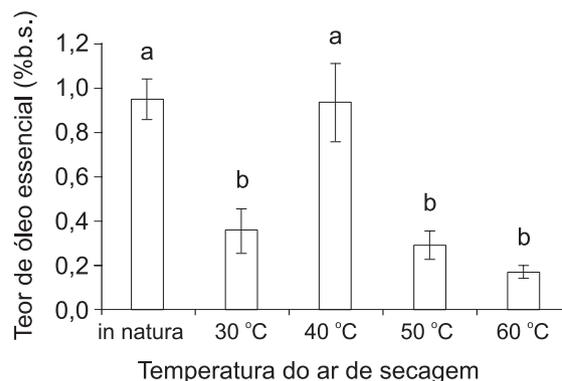


Figura 1. Teor de óleo essencial extraído de folhas e capítulos florais de *P. brevipedunculata* *in natura* e submetidos à secagem em diferentes temperaturas. Médias seguidas pela mesma letra não diferem entre si pelo teste de Tukey aos 5% de probabilidade

A análise por CG/EM do óleo essencial de folhas e capítulos florais de *P. brevipedunculata* proporcionou a identificação de 13 componentes, sumarizados na Tabela 1.

Os componentes majoritários do óleo essencial de *P. brevipedunculata* (Tabela 2) foram geranial (1) e neral (2); somados, esses dois constituintes representam aproximadamente 51% do óleo da planta *in natura* e 37 a 55% do óleo obtido das plantas secas nas quatro temperaturas estudadas. O terceiro componente de maior concentração foi o α -pineno (3), com teor variando de 17 a 30%, entre os tratamentos, seguido do limoneno (4), que variou de 7 a 14%. Observa-se que o total de componentes identificados no óleo essencial, em todos os tratamentos, não foi menor que 92% (Tabela 1). A composição do óleo essencial de *P. brevipedunculata* contendo citral como componente majoritário foi observada por outros autores.^{1,4,18} Diferenças na composição do óleo essencial de uma mesma espécie podem acontecer em decorrência de fatores ambientais, da época do ano e do horário da coleta.¹⁹

Observa-se, ainda na Tabela 2, que os teores de geranial não apresentaram diferença significativa, aos 95% de probabilidade, entre os tratamentos; o teor de neral foi estatisticamente maior no produto seco a 40 °C e menor no seco em ar ambiente (29,7 °C). Nos demais tratamentos, não se observaram diferenças significativas. Os teores de α -pineno, bem como o de limoneno, foram significativamente maiores no produto seco em ar ambiente. As estruturas dos componentes majoritários apresentados na Tabela 2 encontram-se na Figura 2. A confirmação foi realizada pela interpretação dos dados dos espectros no IV, de RMN e comparação com dados da literatura.²⁰

As doses letais frente a larvas de *A. salina* Leach foram 36 µg mL⁻¹, para o óleo extraído da planta *in natura*, e 19 µg mL⁻¹ para o óleo extraído de plantas secas a 40 °C. Isso demonstra que o óleo, tanto da planta *in natura* como da planta seca a 40 °C, foi ativo frente às larvas de *A. salina*. Valores de DL₅₀ ≤ 10³ µg mL⁻¹ são considerados ativos para extratos brutos.²¹

Tabela 1. Composição química do óleo essencial de folhas e capítulos florais de *P. brevipedunculata*, *in natura* e submetidas à secagem em diferentes temperaturas. Os valores são expressos em percentual proporcional da área (médias de três extrações independentes, seguidas de desvio padrão)

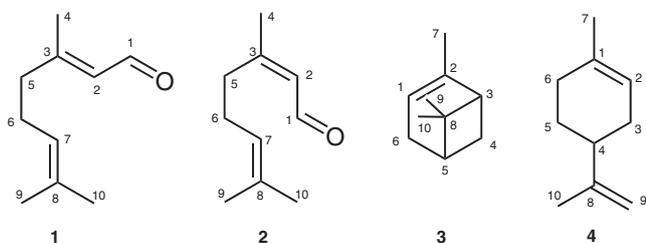
Nº	Componentes do óleo	Identificação	Tratamentos de secagem				
			<i>In natura</i>	Ar ambiente	40 °C	50 °C	60 °C
1	α -pineno	IK ^a , EM ^b , RMN ^c	17,55±1,59	30,66±1,18	19,93±1,48	23,23±1,77	18,79±4,90
2	β -felandreno	IK, EM	0,71±0,04	1,13±0,01	0,84±0,10	0,92±0,07	0,83±0,03
3	β -pineno	IK, EM	t ^e	t	t	t	t
4	6-metilept-5-en-2-one	IK, EM	t	t	0,70±0,12	t	t
5	limoneno	IK, EM, RMN	7,93±1,15	14,74±0,16	10,36±1,42	13,06±1,01	12,63±1,55
6	epóxido de α -pineno	IK, EM	3,95±1,72	3,43±0,03	4,95±2,61	4,30±0,20	3,78±0,20
7	epóxido de limoneno	IK, EM	1,58±0,70	1,20±0,10	1,25±0,60	1,25±0,18	1,30±0,10
8	geraniol	IK, EM	0,54±0,06	t	0,87±0,08	t	t
9	nerol	IK, EM	t	1,07±0,15	t	2,75±0,23	4,09±0,39
10	geranial	IK, EM, RMN, IV ^d	18,85±5,32	15,52±0,39	21,59±0,53	17,74±0,44	20,61±2,67
11	3,7-dimetilocta-1,6-dien-3-ol	IK, EM	t	t	t	3,75±0,19	4,53±0,80
12	neral	IK, EM, RMN, IV	31,78±9,02	21,91±1,45	33,91±1,67	27,78±0,83	29,15±4,31
13	ácido nérico	IK, EM	4,45	2,54±0,07	t	3,72	0,73±0,12
Total identificado			94,06±0,88	92,38±1,04	94,55±0,87	96,03±3,12	97,05±1,42

^aÍndice de Kovats. ^bEspectrometria de massas. ^cRessonância magnética nuclear. ^dInfra vermelho. ^etraços (< 0,5%)

Tabela 2. Teor dos principais constituintes químicos do óleo essencial de folhas e capítulos florais de *P. brevipedunculata*, *in natura* e submetidos à secagem sob diferentes temperaturas do ar

Tratamentos	Componentes do óleo (% área)			
	geranial (1)	neral (2)	α -pineno (3)	limoneno (4)
<i>In natura</i>	18,85 a	31,78 ab	17,55 b	7,93 c
Ar ambiente	15,52 a	21,91 b	30,66 a	14,74 a
40 °C	21,59 a	33,91 a	19,93 b	10,36 bc
50 °C	17,74 a	27,78 ab	23,23 ab	13,06 ab
60 °C	20,61 a	29,16 ab	18,79 b	12,63 ab

Médias seguidas de letra minúscula distinta na mesma coluna, diferem entre si pelo teste de Tukey aos 5% de probabilidade.

**Figura 2.** Estrutura química dos quatro componentes majoritários encontrados no óleo essencial extraído de folhas e capítulos florais de *P. brevipedunculata*: 1. geranial; 2. neral; 3. α -pineno; 4. Limoneno

CONCLUSÕES

A secagem por convecção, tanto em temperatura ambiente ($\cong 30$ °C) quanto em altas temperaturas (50 e 60 °C), teve efeito deletério sobre o teor de óleo essencial de folhas e capítulos florais de *P. brevipedunculata*. A temperatura do ar de secagem indicada para que se mantenha o teor de óleo essencial observado na planta *in natura* é de 40 °C.

Foram identificados 13 componentes do óleo essencial de *P. brevipedunculata*, sendo o citral o componente majoritário, seguido do α -pineno e do limoneno. Suas estruturas foram confirmadas por meio de dados espectrométricos de RMN-¹H, ¹³C e IV.

O óleo extraído da planta *in natura* e da planta seca a 40 °C apresentaram atividade contra larvas de *A. salina* Leach.

AGRADECIMENTOS

Ao apoio financeiro oferecido pelas seguintes instituições: CAPES, CNPq, FAPERJ, FINEP e *International Foundation for Science* (IFS).

REFERÊNCIAS

- Marques, A. M.; Trindade, A. P. F.; Garcia, A. T. C.; Filho, H. C. A.; Esteves, R. L.; Kaplan, M. A. C.; *Anais da 58ª Reunião Anual da Sociedade Brasileira para o Progresso da Ciência*, Florianópolis, Brasil, 2006.
- Mendonça, C. B. F.; Esteves, V. G.; Esteves, R. L.; *Hoehnea* **2002**, *29*, 233; Lisbôa, R. M.; Bove, C. P.; Senna-Valle, L.; *Anais do 3º Simpósio sobre Recursos Naturais e Sócio-econômicos do Pantanal*, Corumbá, Brasil, 2000.
- Albuquerque, M. R. J. R.; Costa, S. M. O.; Bandeira, P. N.; Santiago, G. M. P.; Andrade-Neto, M.; Silveira, E. R.; Pessoa, O. D. L.; *An. Acad. Bras. Cienc.* **2007**, *79*, 209.
- Lorenzi, H.; Matos, F. J. A.; *Plantas Mediciniais no Brasil: Nativas e Exóticas*, 1ª ed., Instituto Plantarum: São Paulo, 2002.
- Agra, M. F.; Baracho, G. S.; Nurit, K.; Basílio, I. J. L. D.; Coelho, V. P. M.; *J. Ethnopharmacol.* **2007**, *111*, 383; Raskin, I.; Ribnicky, D. M.; Komarnytsky, S.; Ilic, N.; Poulev, A.; Borisjuk, N.; Brinker, A.; Moreno, D. A.; Ripoll, C.; Yakoby, N.; O'Neal, J. M.; Cornwell, T.; Pastor, I.; Fridlender, B.; *Trends Biotechnol.* **2002**, *20*, 522.
- <http://apps.who.int/tdr/publications/tdr-research-publications/operational-guidance/pdf/operational-guidance-eng.pdf>, acessada em Outubro 2010 e Maio 2011.
- Silva, F.; Casali, V. W. D.; *Plantas Mediciniais e Aromáticas: Pós-colheita e Óleos Essenciais*, 1ª ed., Arte Livros: Viçosa, 2000; Silva, J. S.; Bebert, P. A.; Rufato, S.; Afonso, A. D. L. Em *Secagem e Armazenamento de Produtos Agrícolas*; Silva, J. S., ed.; Aprenda Fácil: Viçosa, 2008, cap. 4.
- American Society of Agricultural Engineers – ASAE; *Method S358.2. Moisture Measurement – Forages*, EUA, 2000.
- Skrubis, B. G.; *Perfum. Flavor* **1982**, *7*, 37; Ming, L. C.; Figueiredo, R. O.; Machado, S. R.; Andrade, R. M. C.; *Acta Hort.* **1996**, *426*, 555.

10. Pontes, W. J. T.; Oliveira, J. C. S.; Câmara, C. A. G.; *Quim. Nova* **2007**, *30*, 838; Vieira Júnior, G. M.; Silva, H. R.; Bittencourt, T. C.; Chaves, M. H.; *Quim. Nova* **2007**, *30*, 1658.
11. Martinazzo, A. P.; Melo, E. C.; Barbosa, L. C. de A.; Soares, N. de F. F.; Rocha, R. P.; Randuz, L. L.; Berbert, P. A.; *Applied Engineering in Agriculture* **2009**, *25*, 543; Bonato, P. S. Em *Introdução a Métodos Cromatográficos*; Collins, H. C.; Braga, G. L.; Bonato, P. S., eds.; Ed. da Unicamp: Campinas, 1995, cap. 8.
12. Meyer, B. N.; Ferrigni, N. R.; Putnam, J. F.; Jacobsen, L. B.; Nichols, D. E.; McLaughlin, J. L.; *Planta Med.* **1982**, *45*, 31.
13. Farias, M. R. Em *Avaliação da Qualidade de Matérias-Primas Vegetais*; Simões, C. M. O.; Schenkel, E. P.; Gosmann, G.; Mello, J. C. P.; Mentz, L. A.; Petrovick, P. R., eds.; Eds. da UFRGS e UFSC: Porto Alegre/ Florianópolis, 2003.
14. Azevedo, C. S.; *Dissertação de Mestrado*, Universidade Federal de Viçosa, Brasil, 2007.
15. Barbosa, F. F.; Melo, E. C.; Botelho, F. M.; Santos, R. H. S.; *Quim. Nova* **2006**, *29*, 1221.
16. Martinazzo, A. P.; *Tese de Doutorado*, Universidade Federal de Viçosa, Brasil, 2006; Blank, A. F.; Fontes, S. M.; CarvalhoFilho, J. L. S.; Alves, P. B.; Silva-Mann, R.; Mendonça, M. C.; Arrigoni-Blank, M. F.; Rodrigues, M. O.; *Rev. Bras. Plant. Med.* **2005**, *8*, 73; Diaz-Maroto, M. C.; Palomo, E. S.; Castro, L.; Vinas, M. A.; Perz-Coelho, M. S.; *J. Sci. Food Agric.* **2004**, *84*, 2070; Lemos, D. R. H.; *Dissertação de Mestrado*, Universidade Federal de Viçosa, Brasil, 2008; Radünz, L. L.; Melo, E. C.; Berbert, P. A.; Barbosa, L. C. A.; Rocha, R. P.; de Grandi, A. M.; *Rev. Bras. Armazenamento* **2002**, *27*, 09.
17. Gomes, E. C.; Ming, L. C.; Moreira, E. A.; Miguel, O. G.; Miguel, M. D.; Kerber, V. A.; Conti, A.; Filho, A. W.; *Rev. Bras. Farm.* **1993**, *74*, 29; Zoghbi, M. G. B.; Andrade, E. H. A.; Santos, A. S.; Silva, M. H. L.; Maia, J. G. S.; *Flavour Fragr. J.* **1998**, *13*, 47; Lorenzo, D.; Paz, D.; Davies, P.; Vila, R.; Cañigüeral, S.; Dellacasa, E.; *Flavour Fragr. J.* **2001**, *16*, 356; Senatore, F.; Rigano, D.; *Flavour Fragr. J.* **2001**, *16*, 169.
18. Trindade, A. P. F.; Garcia, A. T. C.; Marques, A. M.; Filho, H. C. A.; Lima, M. C. H. P.; Esteves, R. L.; Kaplan, M. A. C.; *Anais da 57ª Reunião Anual da Sociedade Brasileira para o Progresso da Ciência*, Fortaleza, Brasil, 2005.
19. Adzet, T.; Ponz, R.; Wolf, E.; Schulte, E.; *Planta Med.* **1992**, *58*, 562; Singh, R. D.; Gopichand-Meena, R. L.; Sharma, B.; Singh, B.; Kaul, V. K.; Ahuja, P. S.; *Ind. Crops Prod.* **2010**, *32*, 292; Hassiotis, C. N.; Lazari, D. M.; Vlachonasios, K. E.; *Fresenius Environ. Bull.* **2010**, *19*, 1491.
20. Lambert, J. B.; Shurvell, H. F.; Lightner, D. A.; Cooks, R. G.; *Organic Structural Spectroscopy*, Prentice Hall: New Jersey, 1998; Furlan, M. R.; Martins, R. C. C.; Rodrigues, E.; Scalco, N.; Negri, G.; Lago, J. H. G.; *Rev. Bras. Farmacogn.* **2010**, *20*, 686; Comai, S.; Dall'Acqua, S.; Grillo, A.; Castagliuolo, I.; Gurung, K.; Innocenti, G.; *Fitoterapia* **2010**, *81*, 11; Pihlasalo, J.; Klika, K. D.; Yu-Murzin, D.; Nieminen, V.; *J. Mol. Struct.* **2007**, *814*, 33; Lago, J. H. G.; Fávero, O. A.; Romoff, P.; *J. Braz. Chem. Soc.* **2006**, *17*, 1334.
21. McLaughlin, J. L.; Colman-Saizarbitoria, T.; Anderso, J. E.; *Rev. Soc. Venez. Quim.* **1995**, *18*, 13.