

UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE DO SUL INSTITUTO DE CIÊNCIA E TECNOLOGIA DE ALIMENTOS PROGRAMA DE POS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIA E TECNOLOGIA DE ALIMENTOS

COMPOSTOS BIOATIVOS EM SALSA (Petroselinum crispum) E MANJERICÃO (Ocimum basilicum) PRODUZIDOS SOB DIFERENTES SISTEMAS DE CULTIVO

MARIEL DE LOS ÁNGELES PROZ

Porto Alegre 2020

MARIEL DE LOS ÁNGELES PROZ

COMPOSTOS BIOATIVOS EM SALSA (Petroselinum crispum) E MANJERICÃO (Ocimum basilicum) PRODUZIDOS SOB DIFERENTES SISTEMAS DE CULTIVO

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciência e Tecnologia de Alimentos do Instituto de Ciência e Tecnologia de Alimentos da Universidade Federal do Rio Grande do Sul, como requisito parcial para obtenção do grau de Mestre em Ciência e Tecnologia de Alimentos.

Orientador: Prof. Dr. Alessandro de Oliveira Rios

CIP - Catalogação na Publicação

Proz, Mariel de los Ángeles Compostos bioativos em salsa (Petroselinum crispum) e manjericão (Ocimum basilicum) produzidos sob diferentes sistemas de cultivo / Mariel de los Ángeles Proz. -- 2020. 232 f. Orientador: Alessandro de Oliveira Rios.
Dissertação (Mestrado) -- Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Instituto de Ciência e Tecnologia de Alimentos, Programa de Pós-Graduação em Ciência e Tecnologia de Alimentos, Porto Alegre, BR-RS, 2020.

Compostos bioativos. 2. Salsa . 3. Manjericão.
Sistemas de cultivo. 5. Espectrometria de massas.
de Oliveira Rios, Alessandro, orient. II. Título.

Elaborada pelo Sistema de Geração Automática de Ficha Catalográfica da UFRGS com os dados fornecidos pelo(a) autor(a).

UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE DO SUL INSTITUTO DE CIÊNCIA E TECNOLOGIA DE ALIMENTOS PROGRAMA DE POS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIA E TECNOLOGIA DE ALIMENTOS

Autora: Mariel de los Ángeles Proz (Engenheira Química/Universidad Tecnológica Nacional, Facultad Regional Rosario, Argentina)

Título da dissertação: Compostos bioativos em salsa (*Petroselinum crispum*) e manjericão (*Ocimum basilicum*) produzidos sob diferentes sistemas de cultivo

Submetida como parte dos requisitos para a obtenção do grau de MESTRE EM CIÊNCIA E TECNOLOGIA DE ALIMENTOS

Aprovada em: ____/___/

Homologada em: ____/___/

Pela banca examinadora:

Por:

Prof. Dr. Alessandro de Oliveira Rios Orientador – PPGCTA/UFRGS

Prof. Dr. Plinho Francisco Hertz Banca: PPGCTA/UFRGS

Prof^a. Dr^a. Viviani Ruffo de Oliveira Banca: UFRGS

Prof^a. Dr^a. Médelin Marques da Silva Banca: IFRS Prof. Dr. Eliseu Rodrigues Coordenador - PPGCTA/UFRGS

Prof^a. Dra. Simone Hickmann Flôres Diretora - ICTA/UFRGS

AGRADECIMENTOS

Ao Ivan, meu companheiro de vida, que esteve ao meu lado sempre, me apoiando e dando suporte em cada minuto durante o transcorrer desta etapa. Pela compreensão nos momentos de ausência e por todo o carinho e amor.

Aos meus pais, Marien e Mauro, que de longe estão me incentivando e dando força. Obrigada, mãe, por compreender as minhas ausências.

Ao meu orientador, Professor Alesssandro, pelos ensinamentos, tanto nas aulas de Química de Alimentos como no laboratório e no estágio docente. Também pelas observações pontuais que enriqueceram o trabalho desenvolvido e, sobretudo, pela disposição em ajudar, sempre que necessário.

Aos Professores Eliseu e Magnólia. A ela, por toda a ajuda e ensinamentos com as plantas. Apesar de tudo ter sido muito novo para mim, lidar com a terra e estar em contato com a natureza, vendo o crescimento de minhas "pequenas", fez com que este aprendizado ganhasse um lugar especial em meu coração. A ele, pela paciência, tempo e ensinamentos sobre como identificar compostos com o "querido" massas, além das aulas da disciplina Tópicos Avançados em Análise de Alimentos, que foram fundamentais para o desenvolvimento deste trabalho.

Aos colegas do laboratório de Compostos Bioativos, por toda a ajuda e pelos momentos compartilhados. Em especial, ao Renato, à Helena e à Alex Sandra. À Alex Sandra, por ser acolhedora desde o primeiro dia que ingressei no laboratório 211, me dando dicas com os carotenoides. À Helena, por estar sempre à disposição, compartilhando comigo as experiências já vividas com os compostos e me aconselhando. Ao Renato, por toda a sua disposição e auxílio, por sempre estar presente cada vez que precisava, mesmo longe, dando dicas com muita sabedoria. Colegas incondicionais, muito obrigada.

Às minhas colegas e parceiras de mestrado, Camila e Palmira, que sempre estiveram presentes, dando apoio e força, como uma corrente de energia positiva, duas pessoas excepcionais de muito bom coração. Mais que colegas, grandes amigas!

À Lúcia e ao Branco, de Dom Pedro de Alcântara, por aceitarem fazer parte deste estudo e pela maneira gentil com que sempre acolheram a mim e ao Ivan nas visitas. Obrigada, Lúcia, por todo auxílio com as plantas. Sem o seu cuidado, dedicação e ensinamentos, não teria sido possível desenvolver o trabalho da forma como foi.

Ao Thomas, da empresa Plantário[®], pela parceria, apoio e predisposição desde o primeiro momento em que decidimos trabalhar com a câmara deles.

A todos os técnicos do Programa, especialmente à Luana e à Michele, sempre prestativas e atenciosas.

Ao Programa de Pós-graduação em Ciência e Tecnologia de Alimentos da UFRGS, pela oportunidade de entrar em contato com a pesquisa científica, pelas trocas e pelo crescimento pessoal e profissional.

A todos, enfim, que de uma maneira ou de outra ajudaram a tornar possível a realização deste trabalho.

RESUMO

Um dos motivos pelos quais as ervas aromáticas são importantes, seja para saúde ou para outros fins, é a presença de compostos bioativos. No presente estudo, foi avaliado, comparativamente, o conteúdo dos compostos bioativos de salsa (Petroselinum crispum cv. 'Lisa Stella'), manjericão verde (Ocimum basilicum var. minimum cv. 'Grecco a Palla') e manjerição roxo (Ocimum basilicum cv. 'Vermelho Rubi') sob três sistemas de cultivo diferentes (indoor, vaso em estufa e campo aberto orgânico). Os resultados indicaram que o conteúdo dos compostos bioativos variaram entre os sistemas. Na salsa, os valores mais elevados de carotenoides (2621 µg/g peso seco) e clorofilas foram encontrados no sistema indoor. As amostras do campo foram as que apresentaram o maior conteúdo de ácido ascórbico (103 mg/100 g peso fresco). No caso do manjerição verde, o valor mais elevado de carotenoides (3743 µg/g peso seco) foi encontrado no sistema indoor, enquanto que a concentração de compostos fenólicos totais foi maior no campo (25,50 mg/g peso seco). Já o manjerição roxo, obteve maiores conteúdos de compostos fenólicos (não antociânicos) e antocianinas no campo, 33 e 25 mg/g peso seco, respectivamente. Por outro lado, o composto fenólico majoritário encontrado nos dois tipos de cultivares de manjerição foi o ácido rosmarínico, ao passo que a maioria das antocianinas mostraram ser derivadas da aglicona cianidina. Finalmente, os resultados mostraram que o sistema indoor fornece condições suficientes para a síntese de compostos bioativos, que também estão presentes nos outros sistemas de cultivo, embora a maior atividade antioxidante foi encontrada no campo aberto (cultivo orgânico).

Palavras-chave: salsa, manjericão, compostos bioativos, sistemas de cultivo, espectrometria de massas.

ABSTRACT

One of the reasons why aromatic herbs are important for humans, whether for their health or other purposes, is that they are a rich source of bioactive compounds. This study proceeds with a comparative evaluation of the bioactive compounds of parsley (Petroselinum crispum cv. 'Flat Leaf'), basil (Ocimum minimum var. minimum cv. 'Greek'), and purple basil (Ocimum basilicum cv. 'Red Rubin') under different systems of cultivation (indoor, greenhouse, and organic open field). The results indicate that the content of those compounds varied among the three systems. For parsley, the highest values of carotenoids (2621 μ g/g dry weight) and chlorophylls were determined in the indoor system. The highest content of ascorbic acid was found on the field samples (103 mg/100 g fresh weight). In the case of basil, the highest amount of carotenoids was determined in the indoor system (3743 µg/g dry weight), whereas the concentration of total phenolic compounds was the highest in the field (25.50 mg/g dry weight). As for purple basil, the highest content of total phenolic compounds (non-anthocyanics) (33 mg/g dry weight) and anthocyanins (25 mg/g dry weight) were determined in the field samples. On the other hand, the major phenolic compound found in basil plants was rosmarinic acid, while most anthocyanins derived from cyanidin aglycone. Finally, results showed that the indoor system provides sufficient conditions for bioactive compounds synthesis, also found on the other systems of cultivation, even though the highest antioxidant activity was obtained in the field system (organic cultivation).

Keywords: parsley, basil, bioactive compounds, cultivation systems, mass spectrometry.

LISTA DE FIGURAS

CAPÍTULO 1: REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

Figura 1 – Salsa (Petroselinum crispum)	21
Figura 2 – Diferentes tipos de manjerição (Ocimum basilicum)	22
Figura 3 – Espectros de absorção de clorofila e carotenoides (pigmentos acessório	os)
	41

CAPÍTULO 2: MATERIAL E MÉTODOS

Figura 4 – Espectro de emissão dos LEDs da câmara do sistema indoor 47

CAPÍTULO 3: MANUSCRITO

Figure 1 – Images of <i>Petroselinum crispum</i> cv. 'Flat Leaf'(A), <i>Ocimum basilicum</i> cv.
Red Rubin' (B), and Ocimum basilicum var. minimum cv. 'Greek' (C) 62
Figure 2 – Leaf area of one plant of parsley, basil and purple basil (A) and
Productivity of the system of cultivation (B) 67
Figure 3 – Dry weight of leaves, stems, and roots of parsley (A), basil (B), and purple
basil (C) 69

LISTA DE TABELAS

CAPÍTULO 1: REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

Tabela 1 – Conteúdo de compostos fenólicos em salsa	28
Tabela 2 – Conteúdo de ácido ascórbico e atividade antioxidante em salsa	28
Tabela 3 – Conteúdo de carotenoides em salsa	29
Tabela 4 – Conteúdo de antocianinas em manjerição	32
Tabela 5 – Conteúdo de compostos fenólicos e atividade antioxidante em manj	jericão
	32
Tabela 6 – Atividade antioxidante em manjericão	34
Tabela 7 – Conteúdo de carotenoides em manjericão	35

CAPÍTULO 2: MATERIAL E MÉTODOS

CAPÍTULO 3: MANUSCRITO

Table 3 – Content of total chlorophyll, chlorophyll a and b - Content of vitamin C... 70 Table 4 - Carotenoid content of parsley (Petroselinum crispum cv. 'Flat Leaf'). Table 5 - Carotenoid content of green basil (Ocimum basilicum var. minimum cv. 'Greek'). Chromatographic, UV-Vis, and mass spectroscopy characteristics 75 Table 6 - Carotenoid content of purple basil (Ocimum basilicum cv. 'Red Rubin'). Table 7 - Phenolic compounds content of parsley (Petroselinum crispum cv. 'Flat Table 8 - Phenolic compounds content of green basil (Ocimum basilicum var. minimum cv. 'Greek'). Chromatographic, UV-Vis, and mass spectroscopy Table 9 - Phenolic compounds content of purple basil (Ocimum basilicum cv. 'Red Table 10 – Total and individual anthocyanins of purple basil (Ocimum basilicum cv. 'Red Rubin'). Chromatographic, UV-Vis, and mass spectroscopy characteristics.... 98 Table 11 – Antioxidant capcities determined by the ABTS assay 102

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

2,2'- azinobis (3-etilbenzotiazolina-6-ácido sulfônico)
Adenosina trifosfato
Ácido desoxirribonucleico
1,1 ⁻ -diphenyl-2-picrylhydrazyl
Cultivar
Diâmetro interno
Dry weight
Electrospray ionization
Fresh weight
Equivalentes de ácido gálico
Light emitting diode
Limit of detection
Limit of quantification
Methyl tert-butyl ether
Not calculated
Not detected
Equivalentes de quercetina
Quadrupole Time-of-Flight
Coeficiente de determinação
Reactive oxigen species
Reactive nitrogen species
Reactive sulfur species
Total anthocyanins
Total phenolics

SUMÁRIO

1 INTR		TRODUÇÃO	16
2	OB	BJETIVOS	18
	2.1	Objetivo geral	18
	2.2	Objetivos específicos	18

CAPÍTULO 1 - REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

3	REVIS	SÃO BIBLIOGRÁFICA20)
	3.1 Er	vas aromáticas e seus benefícios20)
	3.2 Er	vas estudadas: salsa e manjericão21	1
	3.2.1	Salsa	1
	3.2.2	Manjericão	2
	3.3 Co	ompostos bioativos e atividade antioxidante23	3
	3.3.1	Compostos bioativos em salsa27	7
	3.3.2	Compostos bioativos em manjerição32	1
	3.4 Si	stemas de cultivos da pesquisa	7
	3.4.1	Campo aberto	7
	3.4.2	Casas de vegetação (estufa)	3
	3.4.3	Indoor)
	3.4.4	Fatores de impacto no desenvolvimento das plantas411	1

CAPÍTULO 2 - MATERIAL E MÉTODOS

4	MA	ATERIAL E MÉTODOS	.46
	4.1	Cultivo das espécies	.46
	4.2	Colheita e preparação das amostras	.48

4.3 Determinação dos parâmetros de desenvolvimento das plantas Erro!Indicador não definido.49

4.4	Reagentes e padrões Erro! Indicador não definido.49
4.5	Teor de clorofila total e clorofila a e b50
4.6	Análise de vitamina C
4.7	Análise de compostos bioativos50
4.7	7.1 Carotenoides
4.7	7.2 Compostos fenólicos não antociânicos
4.7	7.3 Compostos fenólicos antociânicos - Antocianinas no manjericão roxo 54
4.8	Capacidade antioxidante – Ensaio ABTS
4.9	Análise estatística

CAPÍTULO 3 - MANUSCRITO

1	1 INTRODUCTION			
2	MA	TERIAL AND METHODS60		
	2.1	Chemical and reagents		
	2.2	Plant materials and growth conditions60		
	2.3	Plant development parameters		
	2.4	Chlorophyll measurement and extraction of ascorbic acid63		
	2.5	Extraction of carotenoids and phenolic compounds		
	2.6	HPLC-DAD-MS/MS Analysis		
	2.7	Antioxidant capacity		
	2.8	Statistical analysis		
3	RES	SULTS AND DISCUSSION		
	3.1	Plant development parameters		
	3.2	Chlorophyll and ascorbic acid contents		
	3.3	Carotenoids711		

3.4	Phenolic compounds (non-anthocyanics) and Anthocyanins	79
3.5	Antioxidant capacity	
REFERENCES		
SUPPORTING INFORMATION117		

CAPÍTULO 4 - DISCUSSÃO GERAL E CONCLUSÃO

DISCUSSÃO GERAL	
CONCLUSÃO	
REFERÊNCIAS	

1 INTRODUÇÃO

As ervas aromáticas sempre estiveram presentes na vida humana ao longo da história. Desde a antiguidade, estas são utilizadas para conferir aroma e sabor às preparações alimentares, o que lhes garante uma grande aceitação em diversas regiões e culturas do planeta. Tais plantas são conhecidas pelas suas propriedades medicinais, nutricionais e pela capacidade de preservação dos alimentos (DALY et al., 2010). Existem evidências de que as ervas aromáticas possuem um papel fundamental na saúde dos consumidores, fato associado a presença de compostos bioativos. Em função disso, tais ervas vêm ganhando popularidade e, no campo científico, tem se dado um aumento na investigação de seus compostos bioativos e de suas atividades biológicas (LARIBI et al., 2015).

Duas ervas amplamente cultivadas e consumidas no mundo são a salsa e o manjericão. A salsa (*Petroselinum crispum*) é uma erva bienal originária do sul da Europa (região mediterrânea) e oeste da Ásia (AZEEZ; PARTHASARATHY, 2008), sendo frequentemente utilizada com diferentes propósitos: como condimento, como ornamento e na medicina (FARZAEI et al., 2013). Já o manjericão (*Ocimum basilicum*) é natural da Índia e Ásia tropical e tem sido cultivado há vários milênios, sendo utilizada, por exemplo, como planta ornamental, medicinal, como tempero aromático, na perfumaria e na aromatização de bebidas (PUSHPANGADAN; GEORGE, 2012). Nestas duas ervas, diferentes compostos bioativos já foram identificados, como os carotenoides, os compostos fenólicos e o ácido ascórbico.

Tais plantas são normalmente cultivadas em áreas rurais. Atualmente, contudo, o cenário da população mundial indica que as áreas urbanas estão mais habitadas que o meio rural, sendo que estudos evidenciam que, para o ano de 2050, haverá uma ocupação de 66 % nas zonas urbanas, o que implica em desafios para o desenvolvimento sustentável nestas regiões (UNITED NATIONS, 2014), bem como, possivelmente, em mudanças com respeito a plantio, colheita e consumo de alimentos. De fato, após o avanço de certas tecnologias, novos sistemas de cultivo têm surgido e sido implementados, como o cultivo *indoor*, que, em função deste cenário descrito, apresenta-se como alternativa ou complemento a sistemas convencionais de plantio, como os cultivos em campo aberto e em estufa.

O sistema *indoor* de cultivo se caracteriza por não depender de fatores ambientais externos para operar. Entre os modelos deste tipo de sistema, é recorrente o uso de luz artificial para complementar o fornecimento de luz natural ou prove-la totalmente. Recentemente, diversos trabalhos têm sido desenvolvidos sobre o processo fotossintético das plantas submetidas a estímulos de iluminação artificial, seja de maneira parcial ou total. As lâmpadas LED (*light emitting diode*) têm sido um dos tipos de luz artificial usado neste tipo de cultivo, tanto em produção de larga escala quanto em cultivos domésticos. Sobre isso, estudos têm indicado que a exposição das plantas a diferentes comprimentos de onda de luz conduz à síntese de antioxidantes e compostos bioativos (HASAN et al., 2017). Dessa maneira, o cultivo *indoor* com lâmpadas de LED tem se apresentado como uma alternativa, inclusive para produção doméstica em pequena escala. Devido a isso, é importante não somente avaliar o desenvolvimento da planta sob essa condição de cultivo, mas também realizar uma comparação com outros métodos convencionais, com o cultivo em campo aberto e o cultivo em vaso em estufa.

2 OBJETIVOS

2.1 Objetivo geral

Avaliar sob diferentes sistemas de cultivo (*indoo*r, vaso em estufa e campo aberto orgânico), o conteúdo de compostos bioativos em salsa (*Petroselinum crispum* cv. 'Lisa Stella'), manjericão verde (*Ocimum minimum* cv. 'Grecco a Palla') e manjericão roxo (*Ocimum basilicum* cv. 'Vermelho Rubi').

2.2 Objetivos específicos

- Avaliar o desenvolvimento e o crescimento das plantas estudadas a partir de sua interação com o ambiente nos diferentes sistemas de cultivo aplicados.
- Quantificar em salsa, manjerição verde e roxo o teor de clorofila total e de clorofila a e b.
- Quantificar o teor de ácido ascórbico nas plantas estudadas.
- Identificar e quantificar o perfil de carotenoides.
- Identificar e quantificar o perfil de antocianinas em manjerição roxo.
- Identificar os compostos fenólicos presentes em salsa, manjerição verde e manjerição roxo.
- Avaliar os perfis de compostos bioativos das plantas estudadas.
- Investigar a capacidade antioxidante dos extratos das plantas através do método do radical ABTS⁺⁺.

CAPÍTULO 1 – REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

3 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

3.1 Ervas aromáticas e seus benefícios

As ervas aromáticas têm sido utilizadas desde a antiguidade até o presente. São denominadas ervas aquelas que provém das folhas das plantas, enquanto aquelas formadas por outras partes que não sejam as folhas são chamadas de especiarias (VIUDA-MARTOS et al., 2011).

Além disso, tanto as especiarias quanto as ervas podem ser classificadas em diferentes grupos segundo seu sabor/gosto: especiarias quentes, como a pimenta Cayenne; especiarias de sabor suave; especiarias aromáticas, como o cravo, o cominho, a noz moscada, e a canela; e, por último, as ervas e legumes aromáticos, como por exemplo o tomilho, o manjericão, a folha de louro, a salsa, a manjerona, a cebola e o alho (EMBUSCADO, 2015).

A utilização dessas plantas fornece sabor às preparações alimentares, além de possibilitar a redução da quantidade de sal e de constituintes gordurosos de um determinado alimento, podendo proporcionar aos consumidores uma melhor digestão, além da ingestão de antioxidantes, os quais podem auxiliar na prevenção de mudanças metabólicas e fisiológicas indesejáveis no organismo (FERNÁNDEZ LÓPEZ; PÉREZ ALVAREZ; VIUDA MARTOS, 2012).

O crescimento do uso de ervas aromáticas para tratamentos e prevenção de certas doenças tem levado a um aumento na investigação dos compostos bioativos e das atividades biológicas dessas plantas (LARIBI et al., 2015). Entre os efeitos benéficos que elas fornecem encontram-se as atividades anti-inflamatória, antimicrobiana, antioxidante, potencial anticarcinogênico, entre outras (GUINÉ; GONÇALVES, 2015; WOJDYŁO; OSZMIAŃSKI; CZEMERYS, 2007; YASHIN et al., 2017). Os principais compostos responsáveis por tais benefícios são chamados de fitoquímicos, sendo estes um grande grupo de constituintes que incluem os compostos fenólicos, carotenoides, esteróis, glucosinolatos, entre outros (EMBUSCADO, 2015).

Essas plantas podem ser consumidas de diversas formas, até mesmo *in natura* e, embora seu consumo não aconteça em níveis tão elevados, isso não significa que o seu teor de compostos bioativos seja de pouca importância e, portanto, o impacto biológico do conteúdo desses componentes não deve ser desconsiderado (OPARA; CHOHAN, 2014).

3.2 Ervas estudadas: salsa e manjericão

Estas ervas foram as escolhidas para o estudo por serem amplamente utilizadas no mundo. No Brasil, o uso do manjericão é muito frequente, e a salsa, devido a sua popularidade, pode ser considerada como um dos principais condimentos do cotidiano, que, junto com a cebolinha, formam uma dupla indispensável nas preparações alimenticias brasileiras.

3.2.1 Salsa

A Petroselinum crispum (Figura 1) (sinônimos Apium petroselinum Linn, P. lativum Hoffm, Carum petroselinum Benth), pertencente à família Apiaceae, é conhecida popularmente como salsa.

Figura 1 – Salsa (Petroselinum crispum)



Fonte: Matrew (2015)

A salsa é uma espécie bienal originária do sul da Europa (região mediterrânea) e oeste da Ásia, sendo atualmente cultivada em várias regiões do mundo (AZEEZ; PARTHASARATHY, 2008).

Existem diversos tipos de salsa, sendo a mais importante, segundo Azeez e Parthasarathy (2008), a de 'Folha Crespa'. A salsa possui folhas verdes, sendo que as folhas encontradas na parte superior possuem uma coloração mais escura. Suas flores são verdes amareladas dispostas em umbelas compostas, que se encontram em hastes principais. As raízes das salsas são bem finas e alargadas com hastes ou talos eretos angulados (CHARLES, 2012).

A salsa, além de seu uso no cotidiano como um vegetal e na ornamentação, também é amplamente utilizada em diferentes países para distintos propósitos, como o uso na medicina tradicional e folclórica (FARZAEI et al., 2013). Por exemplo, no Peru, relata-se o uso de suas sementes para gastrites e fins carminativos (REHECHO et al., 2011). Na Espanha, suas folhas são utilizadas com fins diversos, como para combater a diabetes, hipertensão, prostatite e hiperuricemia (BENÍTEZ; GONZÁLEZ-TEJERO; MOLERO-MESA, 2010). No Iraque, segundo estudo realizado por Aljanaby (2013), o extrato obtido a partir de folhas da salsa com água, tanto quente como fria, foi efetivo para inibir o crescimento das bactérias *P. aeruginosa*, *S. aureus* e *S. pyogenes*, isoladas de pacientes que se encontravam com infecções na pele por queimaduras, demonstrando, assim, que a erva possui atividade antibacteriana.

Como consequência, evidencia-se que várias atividades farmacológicas estão associadas à salsa e que diversos fitoquímicos estão presentes nesta planta aromática, os quais serão discutidos na seção 3.3.1.

3.2.2 Manjericão

O manjerição (Figura 2), de nome científico *Ocimum basilicum*, pertencente à família Lamiaceae, é uma espécie de ciclo anual originário da Índia e Ásia tropical. Essa planta tem sido cultivada há vários milênios devido as suas propriedades medicinais e características aromáticas, sendo atualmente encontrada em diversas partes do mundo, especialmente em países ou regiões com características tropicais, subtropicais, cálidas e temperadas (PUSHPANGADAN; GEORGE, 2012).



Figura 2 – Diferentes tipos de manjerição (Ocimum basilicum)

Fonte: Amazing Herb Garden (2019)

Diversos tipos de manjerição podem ser encontrados. Segundo Morales, Charles e Simon (1993), estes podem se diferenciar em função das características de crescimento e aroma, pela ampla gama de coloração das folhas, que vai desde o verde até o roxo escuro, e pela cor das flores, que também podem existir em diferentes tonalidades, como por exemplo, vermelho, branco, ou púrpura.

Esta erva aromática pode ter diversos usos, sendo normalmente utilizada na culinária tradicional na forma *in natura*, como tempero aromático. O manjericão também pode ser aproveitado de maneira ornamental e como fonte para obtenção de óleo essencial, que possui um papel importante na perfumaria e aromatização de bebidas e alimentos (PUSHPANGADAN; GEORGE, 2012). Trabalhos desenvolvidos por Politeo, Jukic e Milos (2007) demonstraram que este óleo essencial possui boas propriedades antioxidantes.

O manjericão também é largamente utilizado na medicina tradicional, através de suas folhas e infusões (PUSHPANGADAN; GEORGE, 2012). A tribo Santhal da Índia, por exemplo, utiliza o manjericão doce para combater tosse, inflamação, gripe, dor de cabeça, dor de ouvido, picadas de cobra, entre outros PUSHPANGADAN et al.¹ (1993, apud PUSHPANGADAN; GEORGE, 2012). Em algumas áreas do Mediterrâneo, infusões de suas folhas são usadas para diminuir o conteúdo de lipídeos no plasma sanguíneo (ZHANG; LI; WU, 2009). Taie, Salama e Radwan (2010) demonstraram que extratos de *Ocimum basilicum* podem representar uma boa inovação preventiva contra o câncer.

Na seção 3.3.2, serão relatados os compostos bioativos presentes nesta planta aromática relacionados aos benefícios para a saúde humana.

3.3 Compostos bioativos e atividade antioxidante

Alimentos funcionais são definidos como "qualquer alimento ou ingrediente alimentar modificado que pode fornecer benefícios à saúde, além dos nutrientes tradicionais que contêm" (NEWELL-MC CLOUGHLIN, 2010, p. 838). Esses benefícios são desenvolvidos devido à presença de fitoquímicos (carotenoides, flavonoides, fenóis, compostos nitrogenados, etc.), que são "metabólitos secundários produzidos pelas plantas" (NEWELL-MC CLOUGHLIN, 2010).

As ervas aromáticas são fontes de fitoquímicos e de micronutrientes, e segundo a Tabela Brasileira de Composição de Alimentos - TACO (NEPA-UNICAMP, 2011) são

¹ PUSHPANGADAN P., RAJASEKHARAN S. e BIJU SD (1993) *Tulasi*. Tropical Botanic Garden and Research Institute, Thiruvananthapuram, Kerala.

fontes de proteínas, fibras, vitaminas e minerais, como por exemplo o potássio, o cálcio, o fósforo e o ferro. Dessa maneira, as ervas e especiarias, juntamente com as frutas e outros vegetais, podem fornecer também antioxidantes naturais, e muitas vezes, de acordo com Tiwari (2008), tais compostos atuam sinergicamente, incrementando assim sua bioatividade.

A presença de compostos antioxidantes nas plantas é resultado da sua exposição aos estresses ocasionados pelo ambiente em que se encontram, como o estresse oxidativo, a adaptação a temperaturas extremas, o desenvolvimento de barreiras contra patógenos, entre outros (BRECHT et al., 2010).

Os compostos antioxidantes podem atuar na desativação de diversas espécies reativas (CAROCHO; FERREIRA, 2013) que são naturalmente geradas no organismo. Este, para a manutenção da vida, necessita essencialmente de oxigênio molecular para produzir a molécula de adenosina trifosfato (ATP), principal fonte de energia. Entretanto, quando o oxigênio se encontra no seu estado singlete, que é instável, este pode ser prejudicial, pois é um forte oxidante, que pode induzir à formação de radicais livres (BUONOCORE; PERRONE; TATARANNO, 2010). Os radicais livres são moléculas, átomos ou íons com elétrons não pareados, altamente instáveis e reativos, que provêm de três elementos: oxigênio, nitrogênio e enxofre; os quais podem formar como resultado, espécies reativas de oxigênio (ROS), de nitrogênio (RNS) e de enxofre (RSS) (CAROCHO; FERREIRA, 2013).

As ROS, dependendo da concentração em que se encontram, podem atuar de maneira benéfica (baixa/moderada concentração) ou prejudicial (alta concentração) em um organismo. Estas espécies químicas são essenciais para a vida, sendo úteis, por exemplo, para a reprodução e o desenvolvimento fetal, para a proteção contra infecções, e participam como mensageiros secundários em funções fisiológicas. Também estão relacionadas com a fosforilação de proteínas, com a ativação de alguns fatores transcricionais e com a regulação intracelular da concentração de cálcio. Entretanto, as ROS podem possuir efeitos destrutivos, contribuindo, para desordens neurodegenerativas, morte celular por apoptose, necrose e danos ao DNA, a lipídeos e a proteínas (BUONOCORE; PERRONE; TATARANNO, 2010; VALKO et al., 2007).

Segundo Sies² (1985, apud SIES, 1991, p. 31), "o estresse oxidativo está associado a um distúrbio no equilíbrio pró-oxidante-antioxidante em favor do pró-oxidante." Justamente, um dos pré-requisitos da vida aeróbia é a desintoxicação de espécies reativas de oxigênio, que

² SIES H. Oxidative stress: introductory remarks. In: Sies H, ed. Oxidative Stress. London: Academic Press, 1985: 18.

fornece um sistema importante de defesa antioxidante de prevenção, interceptação e reparo, formado por inibidores e sequestradores não enzimáticos (antioxidantes) e sistemas enzimáticos (SIES, 1991). Este processo de "desintoxicação" atua como agente de defesa contra os efeitos negativos do estresse oxidativo.

Halliwell (1990) definiu antioxidantes como "qualquer substância que, quando presente em baixas concentrações comparativamente a um substrato oxidável, atrasa ou inibe a oxidação desse substrato", sendo que, posteriormente, simplificou a definição para "qualquer substância que atrase, previna ou remova o dano oxidativo na molécula alvo" (HALLIWELL; GUTTERIDGE, 2015, p. 77).

O sistema antioxidante produzido no organismo (endógeno) pode ser dividido em dois grupos: antioxidantes enzimáticos e não enzimáticos. Dentre os enzimáticos, encontram-se a catalase, a superóxido dismutase e a glutationa peroxidase; e entre os não enzimáticos há um vasto número, como os compostos nitrogenados (ácido úrico), os cofatores enzimáticos (Q10), as proteínas e os peptídeos (glutationa) (CAROCHO; FERREIRA, 2013). Por outro lado, devido à falta de efetividade das defesas antioxidantes endógenas, antioxidantes fornecidos através de uma dieta (exógenos) são importantes para diminuir os efeitos acumulativos do dano oxidativo que acontece com o passar do tempo ao longo da vida (HALLIWELL, 1994). Assim, os antioxidantes exógenos complementam os endógenos na defesa do organismo, sendo a alimentação a maior fonte dos primeiros, estando estes presentes em abundância em frutas, hortaliças, assim como leguminosas, cereais, oleaginosas e em outros alimentos (RAJENDRAN et al., 2014). Entre os antioxidantes exógenos principais, encontram-se os carotenoides, os polifenóis (por exemplo: flavonoides, flavonas, flavanonas, antocinaninas) e as vitaminas C e E (POLJSAK; ŠUPUT; MILISAV, 2013).

Os carotenoides são pigmentos presentes na natureza, que possuem cores que vão desde o amarelo, passam pelo laranja e finalizam no vermelho; além de serem lipofílicos e sintetizados por plantas e microrganismos, juntamente com as clorofilas (GROSS, 1991). Estes compostos possuem dois grupos estruturais, os carotenos hidrocarbonetos, como o β -caroteno e o licopeno, e as xantofilas oxigenadas, como a luteína e a zeaxantina; mas também podem ser encontrados carotenoides de cadeia mais curta, conhecidos como apocarotenais, entre outras formas estruturais (GOODWIN, 1980).

Na dieta dos seres humanos e de alguns animais, a principal função dos carotenoides é a atuação como precursores de vitamina A, sendo o β-caroteno o carotenoide que apresenta maior atividade pró-vitamínica A (SCHWARTZ; ELBE; GIUSTI, 2010). O mecanismo de

atividade antioxidante dos carotenoides, descoberto por Foote e Denny (1968), baseia-se na capacidade de quelar o oxigênio singlete. A quelação pode se dar tanto por meios físicos como químicos, sendo os primeiros mais eficazes, ocorrendo a transferência de energia do oxigênio singlete para o carotenoide, tendo como resultado o oxigênio no estado fundamental e o carotenoide excitado, o qual poderá dissipar sua energia por meio de interações vibracionais e rotacionais com o solvente, permanecendo intacto para interagir posteriormente com novas espécies (STAHL; SIES, 1996).

Os polifenóis são os compostos antioxidantes mais abundantes na dieta humana. Eles podem ser encontrados principalmente em frutas, assim como em bebidas à base de plantas, como é o caso dos sucos de frutas, café, chá e vinho tinto. Outros alimentos que fornecem polifenóis são os legumes e as verduras, os chocolates, os cereais e as leguminosas (SCALBERT; JOHNSON; SALTMARSH, 2005). As ervas aromáticas, como a salsa e o manjerição, foco deste estudo, também são fonte destes compostos. Os polifenóis, também chamados de compostos fenólicos, se caracterizam pela presença de no mínimo um anel aromático com um ou mais grupos hidroxilas ligados aos anéis. Os compostos fenólicos podem ser classificados pelo número e arranjo dos átomos de carbono, sendo que normalmente encontram-se conjugados a ácidos orgânicos e açúcares. Nesta classificação, existem dois grupos: os flavonoides e os não flavonoides (CROZIER; JAGANATH; CLIFFORD, 2009).

Os flavonoides estão presentes especialmente na casca das frutas e na epiderme das folhas. Existem subclasses de flavonoides, entre elas pode-se citar os flavonóis, as flavonas, os flavanois, as flavanonas, as isoflavonas, as antocianidinas e outros componentes minoritários, como por exemplo, as auronas e as chalconas (CROZIER; JAGANATH; CLIFFORD, 2009). As propriedades antioxidantes dos flavonoides, que possuem um papel protetor no organismo, devem-se a diferentes mecanismos, como à transferência de átomos de hidrogênio, à quelação de metais e à transferência de um único elétron (LEOPOLDINI; RUSSO; TOSCANO, 2011).

Entre os compostos fenólicos não flavonoides encontram-se os ácidos fenólicos, os quais podem ser divididos em dois grupos: os derivados do ácido cinâmico e os derivados do ácido benzoico (SPENCER et al., 2008). Em relação à atividade antioxidante dos ácidos fenólicos e seus ésteres, há uma dependência do número de grupos hidroxilas presentes na molécula, sendo promovidas pelo impedimento estérico (DZIEDZIC; HUDSON, 1984).

As vitaminas C e E são os nomes dados para o ácido ascórbico e os tocoferóis, respectivamente. O ácido ascórbico é um importante antioxidante solúvel em água, que pode reagir diretamente com o oxigênio singlete, com o ânion superóxido e com o radical hidroxil. Esta vitamina possui a capacidade de regenerar a vitamina E, que se encontra em forma de radical. Por outro lado, a vitamina E é formada por quatro tocoferóis e quatro tocotrienois (α , β , γ e δ), todos derivados do 6-cromanol (HERRERA; BARBAS, 2001). A vitamina E atua como antioxidante e é lipossolúvel. Em todas as membranas celulares, a principal forma do antioxidante (vitamina E) é o α - tocoferol, o qual reage com o radical peroxil (ROO⁻), o radical superóxido (O₂⁻), o radical hidroxil (HO⁻) e o oxigênio singlete (¹O₂) (MACHLIN, 1988).

3.3.1 Compostos bioativos em salsa

Em um estudo realizado por Nour, Trandafir e Cosmulescu (2017) foram avaliados os compostos bioativos (compostos fenólicos, flavonoides e ácido ascórbico), a atividade antioxidante e a qualidade nutricional de quatro ervas aromáticas culinárias da cozinha tradicional da Romênia, entre elas a salsa (*Petroselinum crispum*). Neste, a salsa apresentou o menor teor de compostos fenólicos totais entre as plantas avaliadas (salsa, endro, levístico e folhas de aipo) (Tabela 1), maior conteúdo de ácido ascórbico (Tabela 2) e conteúdo de flavonoides totais elevado, perdendo somente para o levístico (Tabela 1). Este valor de flavonoides totais na salsa apresentou boa concordância com os teores encontrados de miricetina e quercetina (Tabela 1). Em relação à atividade antioxidante, embora tenha apresentado o maior conteúdo de ácido ascórbico, seu valor foi o mais baixo em relação às outras ervas (Tabela 2), provavelmente pelo baixo teor de compostos fenólicos.

Já Leahu e colaboradores (2013) estudaram três plantas aromáticas e medicinais (salsa, manjericão e endro), com o objetivo de determinar o conteúdo de polifenóis, a atividade antioxidante e o teor de vitamina C nos extratos das folhas das três plantas, frescas e secas. Para a salsa, o conteúdo de fenóis totais na amostra fresca foi 32,19 % maior que o menor teor encontrado entre as amostras em base seca (Tabela 1). Com relação ao teor de ácido ascórbico na salsa, os maiores valores obtidos foram encontrados na erva fresca (Tabela 2) e, para determinar a atividade antioxidante, foi realizado o método baseado na quelação do radical 1,1' - diphenyl-2-picrylhydrazyl (DPPH), obtendo-se o melhor resultado com salsa seca (Tabela 2).

Compostos fenólicos	Referência
Totais: 360,89 mg GAE/100 g peso fresco Flavonoides totais: 260,55 mg QE/100 g peso fresco Miricetina: 151,03 mg/100 g peso fresco Quercetina: 71,33 mg/100 g peso fresco	Nour, Trandafir e Cosmulescu (2017)
Totais: 211,9 mg GAE/100 g peso fresco 160,3 mg GAE/100 g peso seco 178 mg GAE/100 g peso seco 181,9 mg GAE/100 g peso seco	Leahu et al. (2013)
Flavonoides: Apigenina: Inverno:1.521 μg/g peso fresco Verão: 1.636 μg/g peso fresco	Huber, Hoffmann-Ribani e Rodriguez-Amaya (2009)
Totais: 8,75 mg GAE/g amostra Ácido gálico Ácido protocatecuico Ácido cafeico Ácido p-cumárico Ácido ferúlico	Muchuweti et al. (2007)
Totais: 29,2 mg GAE/g extrato	Hinneburg, Dorman e Hiltunen (2006)
Totais: 0,97 g GAE/100 g peso seco	Shan et al. (2005)
Totais: 67,9 mg ácido cafeico/100 g peso fresco Flavonoides: 52,2 mg/100 g peso fresco Flavanóis: 0,90 mg/100 g peso fresco	Ninfali et al. (2005)

Tabela 1 - Conteúdo de compostos fenólicos em salsa

Nota: GAE: equivalentes de ácido gálico, QE: equivalentes de quercetina.

Ácido ascórbico	Atividade Antioxidante	Referência
206,32 mg/100 g peso freso	987,51 mg Trolox/100 g peso fresco	Nour, Trandafir e Cosmulescu (2017)
347,6 mg/ 100 g erva fresca	IC ₅₀ : 23,84 % erva seca IC ₅₀ : 8,62 % erva fresca	Leahu et al. (2013)
-	15,09 % Eliminação do radical DPPH: 47,5%	Muchuweti et al. (2007)
	178 mg NA ₂ EDTA/g extrato	Hinneburg, Dorman e Hiltunen (2006)
-	1301,8 µmol Trolox/100 g peso fresco	Ninfali et al. (2005)
-	6,31 mmol Trolox/100 g peso seco	Shan et al. (2005)

Tabela 2 - Conteúdo de ácido ascórbico e atividade antioxidante em salsa

Nota: IC₅₀: concentração requerida de um antioxidante para quelar 50 % do radical DPPH.

Nicula, Buie e Bran (2012) estudaram o acúmulo de pigmentos, clorofila e carotenoides, em quatro tipos de plantas (salsa, endro, beterraba e rabanete) cultivadas sob luz artificial. Os autores relataram que o acúmulo de clorofila na salsa teve um incremento lento, mas depois os valores aumentaram, especialmente 35 dias após a semeadura. No trabalho foi relatado que este comportamento poderia ser devido ao fato de que as folhas da salsa encontravam-se bem desenvolvidas após este período, o que incrementaria a superfície irradiada da planta. O acúmulo de carotenoides também se deu de maneira lenta, aumentandose após os 35 dias.

Flavonoides como apigenina (5,7,4)-tri-hidroxiflavona), cosmosina (apigenina 7-*O*-glicosídeo), apina (apigenina 7-*O*-apiosil- $(1\rightarrow 2)$ -*O*-glicosídeo) e hidrato de oxipeucedanina (2'',3''-dihidroxifuranocoumarina) foram identificados no extrato aquoso de salsa por Chaves e colaboradores (2011). Em um estudo realizado por Daly e colaboradores (2010), foi avaliado o conteúdo de carotenoides em folhas de ervas consumidas comumente, entre elas a salsa, sendo também investigada a avaliação da sua acessibilidade usando um modelo de digestão *in vitro*. Em todas as ervas (manjericão, aneto, coentro, hortelã, salsa, alecrim, sálvia e estragão) houve presença dos seguintes carotenoides: β -caroteno, luteína + zeaxantina e β -criptoxantina. Na salsa, os resultados foram os seguintes: o teor de β -caroteno ficou na quinta posição, a luteína + zeaxantina na sexta e o teor de β -criptoxantina ficou somente atrás do coentro e do manjerição (Tabela 3).

Tabela 3 - Conteúdo de carotenoides em salsa

Carotenoides	Referência
β-caroteno: 4107 μg/100 g Luteína + zeaxantina: 2393 μg/100 g β-criptoxantina: 84 μg/100 g	Daly et al. (2010)
β-caroteno: 6.232,5 μ g/100 g peso fresco	Batista et al. (2006)

Um estudo sobre o conteúdo de flavonóis e flavonas presentes em vegetais foi desenvolvido por Huber, Hoffmann-Ribani e Rodriguez-Amaya (2009). Eles determinaram o conteúdo destes compostos e compararam os resultados com dados correspondentes a países diferentes, para assim verificar possíveis efeitos sazonais e de processamento. A salsa esteve entre os vegetais estudados, sendo avaliada na forma fresca e também na forma desidratada em duas estações do ano, inverno e verão. Desta maneira, a concentração de flavonoides para a salsa fresca somente foi evidenciada em apigenina (maiores valores para o cultivo de verão)

(Tabela 1), pois não foi detectado quercetina e kaempferol. No mesmo estudo ainda foi avaliada a salsa desidratada de quatro marcas comerciais diferentes. Os níveis de apigenina nas amostras foram maiores, de 11 a 15 vezes, quando comparados com os da salsa fresca. Nos resultados, os pesquisadores destacaram que embora a salsa seja utilizada em pequenas quantidades em carnes, sopas e outros pratos, ela é uma importante fonte de apigenina, flavona raramente encontrada em outras comidas brasileiras.

Compostos fenólicos de várias ervas e especiarias foram estudados por Muchuweti e colaboradores (2007). Os principais compostos fenólicos encontrados na salsa foram os seguintes: ácido gálico, ácido protocatecuico, ácido cafeico, ácido p-cumárico e ácido ferúlico (Tabela 1). O teor de compostos fenólicos totais das 9 espécies avaliadas (louro, alecrim, sálvia, manjerona, orégano, canela, hortelã, salsa e manjericão) variou de 6,90 a 15,83 mg GAE/g de amostra, sendo a salsa a penúltima colocada. Além disso, no mesmo estudo foi avaliada também a atividade antioxidante e a salsa apresentou uma baixa porcentagem em relação às outras espécies estudadas; somado a isto, a salsa teve a menor atividade de eliminação do radical DPPH (Tabela 2).

Em um estudo desenvolvido por Hinneburg, Dorman e Hiltunen (2006), foram avaliadas nove ervas e especiarias, onde foram determinados o conteúdo de compostos fenólicos totais e a atividade antioxidante, utilizando diferentes métodos: redução de ferro (III), quelação do ferro (II), inibição da peroxidação do ácido linolênico, sequestro de radicais e outros. A salsa ficou em quinto lugar no quesito teor de fenóis totais (Tabela 1). Quanto à atividade antioxidante, embora a salsa tenha mostrado a melhor atuação na quelação de ferro (II) (Tabela 2), ela foi menos efetiva em retardar a oxidação do ácido linolênico.

Um estudo realizado por Batista e colaboradores (2006), investigou o teor de carotenoides, α -caroteno e β -caroteno de ervas aromáticas (cebolinha, bertalha, coentro, salsa e manjericão), a partir do qual se calculou o valor de pró-vitamina A; sendo estas ervas comercializadas em dois mercados locais e em dois pontos de venda da feira livre da cidade de Viçosa. Foi analisada também a influência sazonal das quatro estações do ano. Em todas as amostras não foi encontrado α -caroteno, somente β -caroteno. A salsa apresentou o maior teor médio de β -caroteno entre as ervas avaliadas (Tabela 3). O valor de vitamina A em equivalente de atividade de retinol (RAE) para a salsa foi de 519,4 µg/100 g erva fresca, máximo valor dentre os obtidos, o que representa uma boa fonte dessa vitamina. Sobre a influência das diferentes estações do ano, os pesquisadores não observaram diferença estatisticamente significativa no teor de β -caroteno e vitamina A das ervas estudadas,

provavelmente pela localização da cidade de Viçosa, onde o clima é tropical e as diferenças climáticas entre as estações são pequenas.

Em um trabalho realizado por Shan et al. (2005), avaliou-se a capacidade antioxidante e os constituintes fenólicos presentes nos extratos de 26 ervas e especiarias diferentes, entre elas a salsa. A parte avaliada na salsa foram as folhas, o valor da atividade antioxidante foi baixo em relação aos outros valores das demais amostras (Tabela 2); o conteúdo de fenólicos totais também não se destacou entre os demais teores encontrados (Tabela 1). Entre os principais compostos fenólicos encontrados estavam os ácidos fenólicos (ácido cafeico), os flavonoides e os óleos voláteis.

Ninfali e colaboradores (2005) estudaram a capacidade antioxidante de hortaliças, ervas e especiarias consumidos no centro da Itália (27 hortaliças e 15 ervas aromáticas e algumas especiarias), assim como o conteúdo de compostos fenólicos, o qual foi combinado com o teor de dois subgrupos fenólicos, flavonoides e flavanóis. Além disso, os mesmos parâmetros foram estudados também em vegetais cozidos, saladas e molhos de salada comuns da Itália. Dessa forma, entre as 15 ervas avaliadas, a salsa obteve os seguintes valores: seu conteúdo de fenólicos totais foi o menor (Tabela 1), o teor de flavonoides foi o quarto menor teor (Tabela 1) assim como o valor de flavanóis (Tabela 1). Com respeito à atividade antioxidante da salsa, seu valor ficou na penúltima posição (Tabela 2). Nos resultados encontrados, os autores ressaltaram a contribuição das ervas aromáticas nos valores de compostos fenólicos e na capacidade antioxidante, sendo importante a introdução dessas ervas como suplemento sazonal na dieta das pessoas de diferentes faixas etárias.

Levando em consideração os estudos apresentados acima, pode-se em síntese concluir que: 1) a salsa apresenta como principal carotenoide o β -caroteno; e 2) em relação aos compostos fenólicos é rica em ácidos fenólicos e flavonas (apigenina e seus derivados), além de possuir flavonoides como quercetina e kaempferol.

3.3.2 Compostos bioativos em manjerição

Em um trabalho realizado por Flanigan e Niemeyer (2014), determinou-se a concentração de antocianinas individuais e totais em oito cultivares de manjericão roxo, assim como os níveis de ácidos fenólicos e suas propriedades antioxidantes. Os resultados evidenciaram que as concentrações de antocianinas totais e individuais desta planta variam conforme o tipo de cultivar. A concentração média de antocianina total, variou em torno de

duas vezes a mais na cultivar Richter's 'Purple Ruffles' em relação à cultivar 'Rubin' (Tabela 4). Quanto aos níveis de fenólicos totais, a média da concentração na cultivar 'Purple Delight' foi o dobro comparado ao teor encontrado na cultivar Johnnny's 'Purple Ruffles' (Tabela 5). Além disso, evidenciou-se que, embora os tipos de cultivares não tenham causado efeito significativo nos níveis de fenólicos totais, eles influenciaram na concentração de alguns ácidos fenólicos individuais, como o ácido chicórico e o caftárico.

T 1 1 4	0 / 1	1			•	• ~
Tabela 4 -	('ontendo	de	antocianinas	em	maniei	1020
	Contcudo	uc	amociannas	CIII	manje	icao

Antocianinas	Referência
Totais (equivalente de kuromanina) 'Rubin': 7,55 mg/g matéria seca Richter's 'Purple Ruffles': 16,6 mg/g matéria seca	Flanigan e Niemeyer (2014)
Totais (equivalente de antocianina*) 'Cinnamon' 0,48 mg/g matéra seca 'Petra Dark Red': 8,74 mg/g matéra seca	Kwee e Niemeyer (2011)
* A	

* A curva de calibração foi feita com o padrão kuromanina.

Tabela 5 - Conteúdo de compostos fenólicos e atividade antioxidante em	manjericão
	(continua)

Compostos fenólicos	Referência
Totais (mínimos e máximos encontrados) Johnnny's 'Purple Ruffles': 13,1 mg GAE/g matéria seca 'Purple Delight': 26,9 mg GAE/g matéria seca	Flanigan e Niemeyer (2014)
Totais (mínimos e máximos encontrados) 'Sweet Dani' Lemon: 3,47 mg GAE/g matéria seca 'Spice': 17,58 mg GAE/g matéria seca Ácido Rosmarínico 'Sweet Dani' Lemon: 0,06 mg/g matéria seca 'Mrs Burns' Lemon: 6,09 mg/g matéria seca Ácido Chicórico 'Spice': 0,03 mg/g matéria seca 'Siam Queen' Thai: 2,78 mg/g matéria seca Ácido Caftárico 'Spice' e 'Sweet Salad': 0,09 mg/g matéria seca Ácido cafeico 'Spice' e "Blue Spice': 0,04 mg/g matéria seca 'Gecofure': 0,77 mg/g matéria seca	Kwee e Niemeyer (2011)

	(continuação
Compostos fenólicos	Referência
Totais	
'Sweet basil'	
Folhas: 523 mg ácido gálico/100 g peso fresco	
Hastes: 244 mg ácido gálico/100 g peso fresco	
'Thai basil'	
Folhas: 605 mg ácido gálico/100 g peso fresco	
Hastes: 231 mg ácido gálico/100 g peso fresco	
Ácido Rosmarínico	
'Sweet basil'	
Folhas: 112 mg/100 g peso fresco	
Hastes: 31,9 mg/100 g peso fresco	
'Thai basil'	Lass Casal
Folhas: 128 mg/100 g peso fresco	Lee e Scagel
Hastes: 40,3 mg/100 g peso fresco	(2009)
Acido Chicórico	
'Sweet basil'	
Folhas: 51,8 mg/100 g peso fresco	
Hastes: não detectado	
That basil' (100)	
Folhas: 88,5 mg/100 g peso fresco	
Hastes: 0,30 mg/100 g peso fresco	
Acido Caltarico	
Sweet Dash	
Fomas: 10,5 mg/100 g peso nesco	
The basil'	
Follows: 1.02 mg/100 g pass frages	
Hastes: não detectado	
Totais: 147 mg GAE/g extrato	Hinneburg, Dorman e
	Hiltunen (2006)
Totais: 3,64 mg GAE/100 g matéria seca	
Principais compostos fenólicos encontrados:	
Ácido rosmarínico	Shan et al
Derivados de cafeoil	(2005)
Diterpernos fenólicos	(2000)
Compostos voláteis (carvacrol)	
Flavonoides (catequina)	
Totais: 234.0 mg ácido cafeico/100 g peso fresco	
Flavonoides: 230.0 mg/100 g peso fresco	Ninfali et al.
Flavanóis: 0,93 mg/100 g peso fresco	(2005)

Tabela 5 – Conteúdo de compostos fenólicos e atividade antioxidante em manjerição (continuação)

Ainda no mesmo estudo, entre os ácidos fenólicos com maior concentração, encontravam-se o ácido cafeico, o caftárico, o chicórico, o gentísico e o rosmarínico. Em alguns casos de cultivares, a concentração elevada de ácidos fenólicos se correlacionava com a baixa produção de antocianinas e vice-versa, mas, por outro lado, para outras cultivares os

níveis de ácidos fenólicos e antocianinas eram uniformemente baixos quando comparados a outras. Quanto à atividade antioxidante (Tabela 6), os resultados mostraram que a concentração de fenólicos e antocianinas possuem um papel importante na atividade antioxidante, sendo que para algumas cultivares a composição individual, tanto de ácido fenólico quanto de antocianina, também contribuem para as propriedades antioxidantes.

No trabalho desenvolvido por Lu e colaboradores (2014), folhas de manjericão orgânico e convencional foram caracterizadas por cromatografia de alta eficiência e espectrometria de massas por injeção em fluxo, a partir da análise de componentes principais. Os resultados obtidos no estudo indicaram que as amostras de manjericão orgânico e convencional podem ter perfis químicos significativamente diferentes e, entre os compostos que mais contribuem nessa diferença, encontram-se a luteolina 5-*O*-glicosídeo, o derivado do ácido cafeico, o ácido chicórico, o kaempferol 3-O-malonylglicosídeo e o ácido ursólico. Contudo, os autores não quantificaram estes compostos, somente fizeram sua caracterização.

Atividade antioxidante	Referência
Método FRAP (mínimos e máximos encontrados) Johnnny's 'Purple Ruffles': 24,6 mmol/100 g matéria seca 'Purple Delight': 34,8 mmol/100 g matéria seca	Flanigan e Niemeyer (2014)
Método DPPH (mínimos e máximos encontrados) 'Nufar F1': 3,36 mmol/100 g matéria seca 'Sweet Dani' Lemon: 3,46 mmol/100 g matéria seca 'Ararat': 16,76 mmol/100 g matéria seca 'Gecofure': 16,38 mmol/100 g matéria seca	Kwee e Niemeyer (2011)
Atividade de redução de Fe (III) a Fe (II): 0,54 mmol ácido ascórbico/g extrato Degradação da desoxirribose mediada por radical hidroxila em local específico: 387 μmol manitol/g extrato	Hinneburg, Dorman e Hiltunen (2006)
29,59 mmol Trolox/100 g matéria seca	Shan et al. (2005)
4.805,2 μmol Trolox/100 g peso fresco	Ninfali et al. (2005)

Tabela 6 - Atividade antioxidante do manjerição

Nota: FRAP: Poder antioxidante de redução de ferro, DPPH: método baseado na quelação do radical 1,1' - diphenyl-2-picrylhydrazyl

Kwee e Niemeyer (2011) estudaram a composição fenólica e a atividade antioxidante de 15 cultivares diferentes de manjerição. O tipo de cultivar afetou as concentrações do ácido rosmarínico, chicórico e cafeico, mas não houveram mudanças nas concentrações do ácido caftárico. No estudo, nove das cultivares possuíram níveis mais elevados de ácido chicórico que rosmarínico. Além disso, seis das cultivares estudadas apresentaram concentrações de ácido caftárico e cafeico em níveis similares ou mais elevados que o ácido rosmarínico. A concentração de antocianina total variou em torno de dezoito vezes a mais na cultivar 'Petra Dark Red' em relação à cultivar 'Cinnamon' (Tabela 4). Quanto à atividade antioxidante (Tabela 6), evidenciou-se através dos resultados, que o perfil de ácidos fenólicos de um cultivar determinado de manjerição pode ter uma influência importante na capacidade antioxidante, quando comparado com a concentração de fenólicos totais (Tabela 5).

No estudo realizado por Daly e colaboradores (2010), discutido na sessão anterior, entre as ervas avaliadas esteve presente também o manjericão. Neste, o manjericão teve os valores mais altos de β -caroteno e de luteína + zeaxantina, quando comparado com as outras sete ervas. Em relação aos valores de β -criptoxantina, o manjericão ficou atrás apenas do coentro (Tabela 7).

Carotenoides	Referência
β-caroteno: 18.360 μg/100 g Luteína + zeaxantina: 6.634 μg/100 g β-criptoxantina: 95 μg/100 g	Daly et al. (2010)
β-caroteno: 3.899,4 μ g/100 g peso fresco	Batista et al. (2006)
'Sweet Thai' (maior conteúdo de carotenoides no campo) Luteína: 8,27 mg/100 g base úmida 0,80 mg/g base seca Zeaxantina: 0,62 mg/100 g base úmida 0,05 mg/g base seca β -caroteno: 7,70 mg/100 base úmida 0,59 mg/g base seca 'Osmin Purple' (maior conteúdo de carotenoides na estufa) Luteína: 7,78 mg/100 g base úmida 0,76 mg/g base seca Zeaxantina: 0,42 mg/100 g base úmida 0,04 mg/g base seca β -caroteno: 6,23 mg/100 base úmida 0,61 mg/g base seca	Kopsell, Kopsell e Curran-Celentano (2005)

Tabela 7 - Conteúdo de carotenoides em manjerição

Lee e Scagel (2009) identificaram, pela primeira vez, em seu trabalho, a presença de ácido chicórico nas folhas de manjericão. O ácido rosmarínico foi o principal composto fenólico encontrado em folhas e hastes da planta. Nas folhas, o segundo composto fenólico encontrado em maior concentração foi o ácido chicórico, seguido pelo ácido caftárico (ácido cafeoiltartârico) (Tabela 5). No estudo desenvolvido por Batista e colaboradores (2006), já citado na sessão anterior, encontraram-se os seguintes resultados: o teor médio de β -caroteno para o manjericão teve um valor 1,6 vezes menor em relação à salsa (Tabela 7); e o valor de vitamina A em equivalente de atividade de retinol (RAE) foi de 325 µg/100 g erva fresca.

No estudo desenvolvido por Hinneburg, Dorman e Hiltunen (2006), o manjericão ficou em primeiro lugar no quesito teor de fenóis totais (Tabela 5). Quanto à atividade antioxidante, os extratos de manjericão mostraram ter a atividade mais elevada na redução do ferro (III) a ferro (II) e na inibição da degradação da desoxirribose (Tabela 6), exceto no caso da quelação de ferro (II).

No trabalho realizado por Shan et al. (2005) avaliou-se a capacidade antioxidante e os constituintes fenólicos presentes nos extratos de 26 especiarias diferentes, entre elas o manjerição. A atividade antioxidante (Tabela 6) e o conteúdo de fenólicos totais (Tabela 5) para o manjerição tiveram um valor intermediário em relação aos outros valores das demais especiarias. Entre os principais compostos fenólicos encontrados, estavam os ácidos fenólicos (ácido rosmarínico, derivados de cafeoil), os diterpernos fenólicos, os compostos voláteis (carvacrol) e os flavonoides (catequina).

Uma pesquisa desenvolvida por Kopsell, Kopsell e Curran-Celentano (2005) teve por objetivo estudar a caracterização da concentração de carotenoides nutricionalmente importantes e a clorofila em oito cultivares de manjericão ('Genovese', 'Italian large leaf', 'Nufar', 'Red Rubin', 'Osmin Purple', 'Spicy Bush', 'Cinnamon' e 'Sweet Thai'), os quais foram cultivados em dois ambientes diferentes, campo e estufa. Os resultados encontrados foram os seguintes (Tabela 7): 'Sweet Thai' teve o maior conteúdo de carotenoides no campo; e a cultivar 'Osmin Purple' acumulou a maior concentração de carotenoides na estufa. No estudo evidenciou-se que, quando comparados os dois ambientes de cultivo, a maior concentração de pigmentos (clorofila e carotenoides), expressos tanto em base úmida quanto em base seca, foram obtidos no campo. Exceções a este comportamento foram visualizadas com os manjerições de folha roxa ('Osmin Purple' e 'Red Rubin').

No estudo de Ninfali e colaboradores (2005), descobriu-se que o conteúdo de fenólicos totais no manjericão foi aproximadamente 3,5 vezes maior que o encontrado na salsa, já apontado anteriormente (ver p. 23); o teor de flavonoides foi 4,4 vezes do que a salsa; e o valor de flavanóis obtido foi similar ao da salsa (Tabela 5). Com respeito à atividade antioxidante do manjericão, esta foi 3,7 vezes a mais do que o valor encontrado na salsa (Tabela 6).
A partir dos estudos apontados acima, podemos concluir que as concentrações de compostos bioativos em manjericão variam de acordo com o tipo de cultivar. Em todos eles (ou "em sua maioria"), porém observa-se que os principais compostos fenólicos encontrados foram os ácidos fenólicos como o rosmarínico, o chicórico e o caftárico. Além disso, evidenciou-se a presença de antocianinas no manjericão roxo e como principais carotenoides o β -caroteno, a luteína e a zeaxantina.

3.4 Sistemas de cultivos da pesquisa

3.4.1 Campo aberto

Dentre os tipos de cultivo existentes, o mais conhecido no mundo da produção agrícola é o cultivo em campo aberto. Em síntese, pode-se conceituá-lo como um sistema que utiliza espaços abertos, em que predomina a interferência de fatores naturais tais como a chuva, o sol, o vento e o solo.

Ao fazer-se um resgate histórico, percebe-se que a primeira Revolução Agrícola (ao redor do ano de 1800) acarretou um aumento na produção devido à utilização de excrementos de animais para adubação e a rotação de plantas forrageiras com os campos cultivados; portanto, houve uma associação da criação de animais à agricultura (FREITAS, 2000). Por sua vez, a agricultura atual predominante, também conhecida como "agricultura convencional", pode ser descrita como um conjunto de técnicas de produção que surgiram em meados do século XIX, com a segunda Revolução Agrícola. Esta revolução iniciou-se com o lançamento dos adubos químicos, sendo reduzidas as práticas de rotação e o uso de estercos animais, o que gerou a ilusão de que a nutrição das plantas tinha sido resolvida. Além disso, o melhoramento genético de sementes e a motomecanização geraram o desenvolvimento de grandes monoculturas, sendo realizada a adubação com os macronutrientes (nitrogênio, fósforo e potássio), sem existir a preocupação com a reposição de matéria orgânica, o que acarretou em deficiências de micronutrientes e, ao mesmo tempo, em presença de doenças e pragas. Agrotóxicos foram desenvolvidos para combater tais problemas, terminando por ocasionar um maior desequilíbrio natural (FREITAS, 2000).

No Brasil e em outros países subdesenvolvidos, esta última revolução foi introduzida como "Revolução Verde", caracterizando-se pelo uso intensivo de insumos químicos, tais como adubos solúveis e agrotóxicos, sementes melhoradas compatíveis com esses insumos e alta mecanização. A Revolução Verde resultou em aumento da produção; entretanto,

problemas foram surgindo, como a erosão do solo, a perda de fertilidade, a perda de biodiversidade, a contaminação do solo e das águas por nitratos e agrotóxicos, o surgimento de novas pragas e outras resistentes aos agrotóxicos, a contaminação de alimentos, intoxicações dos trabalhadores rurais, alimentos sem sabor, entre outros (FREITAS, 2000).

Dessa maneira, observa-se que embora os bons rendimentos e a boa produtividade deste modelo de agricultura "convencional" sejam evidentes, o aspecto da sustentabilidade é abnegado, o que pode conduzir a sérios problemas ambientais. De forma contrária, a natureza (em sua essência) funciona em ciclos que garantem a sustentabilidade de todos os processos necessários para a manutenção da vida (FREITAS, 2000). Visto isso, um novo conceito de produção de alimentos surgiu, o da produção orgânica, que além de ser uma alternativa à chamada produção convencional, é ecologicamente correta e vem ganhando a adesão de alguns setores da população que buscam uma alimentação mais saudável (RESENDE; JÚNIOR, 2011).

O conceito de agricultura orgânica surgiu nos anos de 1925 a 1930 com os trabalhos do inglês Albert Howard, os quais destacam a importância da matéria orgânica nos processos produtivos e apontam que o solo não deve ser entendido somente como um conjunto de substâncias, pois nele ocorrem uma série de processos vivos e dinâmicos essenciais à saúde das plantas, o que poderia ser chamado de "solo vivo" (ALMEIDA et al., 2007). No Brasil, a agricultura orgânica está regulamentada através da lei 10.831, de 23 de dezembro de 2003. De acordo com Pimentel et al. (2005), o objetivo da agricultura orgânica é aumentar processos ecológicos que contribuem para a nutrição da planta, a conservação do solo, bem como de recursos hídricos. Além disso, este sistema de cultivo elimina o uso de agroquímicos, o que pode melhorar o ambiente e a economia agrícola.

Na presente pesquisa, o cultivo em campo aberto escolhido para a realização do estudo foi o orgânico.

3.4.2 Casas de vegetação (estufa)

O cultivo em casas de vegetação é um instrumento para a produção de plantas com proteção ambiental. As casas de vegetação são construídas com diferentes materiais, como madeira, ferro e alumínio, possuindo uma cobertura com materiais transparentes que permitem a passagem da luz solar para garantir o crescimento e o desenvolvimento das plantas. A utilização de estruturas pode ser parcial quando, por exemplo, a cobertura é utilizada para o efeito "guarda-chuva" (comum em regiões tropicais), ou plena, explorando todo o potencial, construindo-se uma casa de vegetação completa, com todos os controles para cobertura e parâmetros meteorológicos para a proteção das plantas, tais como a precipitação pluviométrica, além de cortinas laterais para geração e aprisionamento de calor, utilizando-se, então, o efeito estufa, razão pela qual as casas de vegetação são mais conhecidas como estufas. A escolha de um determinado tipo de estufa depende de vários aspectos técnicos, como as características climáticas da área onde ela será estabelecida, as exigências agroclimáticas da espécie da planta a ser cultivada, entre outros. Ainda, elas podem ser classificadas em função dos parâmetros meteorológicos em não climatizadas, semiclimatizadas e climatizadas. As não climatizadas não possuem nenhum equipamento e são condicionadas pelos fatores físicos próprios da natureza do ambiente. Já as semiclimatizadas possuem alguma automatização no controle de temperatura, umidade e luz. Por fim, as climatizadas são dotadas de mecanismos de acionamento automático eletrônicos, elétricos e mecânicos para controle de temperaturas, umidade relativa, luz e, além de fazerem uso de energia transformada em suas atividades. A utilização deste último tipo é comum em países com alto poder aquisitivo, como Japão, Holanda e Espanha (REIS, 2005).

O cultivo protegido é um sistema que permite a produção em qualquer época do ano, o que impede que condições desfavoráveis como umidade, temperatura, vento e luminosidade prejudiquem a produção de hortaliças. No Brasil, o cultivo protegido mais utilizado são os telados, no qual um teto de plástico protege as plantas da chuva, enquanto as laterais feitas de tela anti-insetos evitam a entrada de pragas (EMBRAPA, 2015).

3.4.3 Indoor

Nos últimos anos, um novo tipo de tecnologia agrícola vem sendo apresentado, a "agricultura interna" (*indoor*), a que vem recebendo boa receptividade por sua capacidade sustentável de dar suporte aos sistemas alimentares existentes (NEWBEAN CAPITAL, 2015).

Estudos existentes sobre agricultura urbana introduziram o termo "Zero-a*creage farming*", o qual descreve todas as formas de agricultura urbana que se caracterizam por não utilizarem extensões de terra ou espaços abertos como parques, terrenos baldios, jardins e outros. Dentro desse tipo de agricultura enquadram-se as estufas e os jardins em telhados, plantações *indoor* e as estufas verticais (SPECHT et al., 2014).

A agricultura *indoor* possui um grande espectro de formas de aplicação, sendo que hoje, conforme Newbean Capital (2015), podem ser resumidas em quatro categorias:

- Casas de vegetação hidropônicas: os telhados utilizados são transparentes, com o objetivo de utilizar a luz natural do sol. Durante os dias escuros e no inverno, onde os períodos de crescimento encontram-se fora do pico, utiliza-se iluminação suplementar (artificial).
- Fazendas de armazém (*Warehouse farms*): o local é adaptado com equipamentos aquapônicos, hidropônicos ou aeropônicos, sendo que o cultivo é realizado em forma vertical para assim conseguir economias de escala. O sistema de iluminação artificial é utilizado sempre.
- Fazendas em contêiner (*Container farms*): neste tipo, como no anterior, emprega-se a agricultura vertical e iluminação artificial, mas a diferença em relação às fazendas de armazém é que os contêineres buscam padronização no cultivo.
- Sistemas Domésticos: são pequenas unidades de crescimento padronizadas, focadas em design e conveniência, utilizados pelos consumidores no âmbito doméstico.

Outro aspecto do cultivo *indoor* é a possibilidade de produção de cultivo durante o ano todo, proporcionando proteção em relação aos efeitos adversos do clima. Além disso, nos dias atuais, um movimento chamado "*eating local*", que vem crescendo, junto a novas formas de distribuição, tem favorecido a ascensão do cultivo *indoor* no mercado (NEWBEAN CAPITAL, 2015).

O crescimento desta forma de cultivo fez com que, durante os últimos anos, diversos trabalhos tenham sido e venham sendo desenvolvidos sobre a fotossíntese nas plantas por meio de iluminação artificial, seja de maneira parcial ou total. Na atualidade, lâmpadas LED (*light emitting diode*) têm se mostrado muito melhores que outras tecnologias de luz artificial empregadas para o crescimento de plantas.

A iluminação artificial em cultivos interiores (*indoor*) para o crescimento de plantas funciona da seguinte maneira: proporcionam toda a luz que a planta precisa para o seu crescimento, complementam a luz natural, especialmente nos meses de inverno, onde as horas de luz são mais curtas, e aumentam o período de luz com a finalidade de incrementar o crescimento e a floração (RAMOS GONZALÍAS; RAMÍREZ LASSO, 2016).

3.4.4 Fatores de impacto no desenvolvimento das plantas

O conteúdo de compostos bioativos nos vegetais pode alterar-se de acordo com as variedades cultivadas e/ou espécies, sendo influenciado pelo clima e tecnologias aplicadas durante o cultivo. O desenvolvimento e crescimento das plantas pode ser afetado pela temperatura, luz, tipo de solo, água (precipitação pluviométrica ou irrigação), vento, umidade relativa do ar e outros (NICULA; BUIE; BRAN, 2012).

As plantas, desde a germinação até a floração e a produção de sementes e frutos, necessitam de luz. A principal fonte de luz das plantas é o sol, sendo que sua luminosidade está presente tecnicamente durante 12 horas, podendo variar em função do local e da estação, o que afeta positiva ou negativamente a produção (RAMOS GONZALÍAS; RAMÍREZ LASSO, 2016).

O espectro de radiação solar está composto principalmente pela porção de luz visível e ultravioleta, sendo as plantas bastante seletivas em absorver o comprimento de onda adequado para seu crescimento, não absorvendo todos os comprimentos de onda da radiação solar. A região mais importante que as plantas utilizam para realizar a fotossíntese encontra-se entre 400 nm e 700 nm, conhecida também como Radiação Fotossinteticamente Ativa (PAR). Na fotossíntese, o primeiro passo é a absorção de luz pelos pigmentos de antena localizados nos cloroplastos. Todos os organismos fotossintéticos possuem clorofila a, e este é o primeiro pigmento do processo fotossintético, mas existem também outros pigmentos envolvidos na coleta de luz e fotoquímica, como a clorofila b e os carotenoides (Figura 3) (HELIOSPECTRA, 2012).





Fonte: Heliospectra (2012)

No caso da plantação *indoor*, os fatores apontados têm sido a base da seleção para a composição do espectro das lâmpadas LED (HELIOSPECTRA, 2012). Em um estudo, combinações de luz LED azul (400-500 nm) com luz LED vermelha (610-720 nm) tiveram efeitos positivos no crescimento de vegetais verdes e no valor nutricional em vários experimentos (SINGH et al., 2015). Em alguns estudos, além do aumento do valor nutricional, a exposição a diferentes comprimentos de onda de luz LED conduziu à síntese de antioxidantes e compostos bioativos, o que levou a uma melhora na qualidade nutricional dos cultivos (HASAN et al., 2017).

Outro elemento climático vinculado à luz é a temperatura. Na natureza, os ciclos de temperatura e luz diurna acontecem simultaneamente, ou seja, luminoso e quente durante o dia e escuro e frio à noite (FRANKLIN et al., 2014). A fotossíntese, como todo processo biológico, acontece através das enzimas. Temperaturas baixas reduzem a velocidade das reações enzimáticas; por outro lado o aumento da temperatura provoca redução da fluidez da membrana das plantas, o que afeta a conformação ótima de suas proteínas levando à redução de sua atividade (SANTOS, 2005). A temperatura portanto, além de afetar as taxas de fotossíntese, também afeta o metabolismo, a regulação hormonal, a repartição dos metabolitos entre as diversas partes e os órgãos das plantas (BRITO, 2018).

Outro fator importante relacionado ao desenvolvimento das plantas é o solo. Para que ele possa oferecer o que as plantas necessitam, deve ser compreendido de acordo com seus três aspectos: químico, físico e biológico. No solo, encontram-se em diferentes proporções, água, ar, matéria orgânica e minerais. A parte mineral pode ser de três tipos: argila (partículas mais finas, < 0,002 mm), silte (partículas intermediárias, entre 0,002 e 0,02 mm) e areia (partículas mais grossas, entre 0,02 e 2 mm). Ainda, existem os solos arenoso (menos de 20 % de argila), areno-argiloso (20-40 % de argila) e argiloso (mais de 40 % de argila) (FREITAS, 2000).

As propriedades físicas de um solo relacionam-se com a capacidade de circular ar, absorver e reter água e a facilidade para penetração das raízes das plantas. Já as propriedades químicas, estão envolvidas com a capacidade de proporcionar reações químicas e com a facilidade de reter e fornecer nutrientes para as raízes. A matéria orgânica, o alimento da vida dos solos, é formada pela decomposição de restos de vegetais e animais a partir dos organismos decompositores (FREITAS, 2000). O crescimento das plantas, em função da quantidade de nutrientes no solo, geralmente apresenta um desenvolvimento padrão: quando aplica-se adubo inorgânico, evidencia-se um incremento na produção, à medida que a dose

aplicada aumenta, até um determinado ponto, a partir do qual se observa declínio da produtividade. No caso do uso de matéria orgânica, o crescimento é impulsionado e, em geral, não é observado declínio, ainda que a dose aplicada seja em quantidades elevadas. Na aplicação de fertilizantes orgânicos solúveis, observa-se um comportamento intermediário entre os dois casos anteriores (FAÇANHA; CANELLAS; DOBBSS, 2008).

Com as novas tecnologias e o avanço da ciência, sistemas de produção de mudas e o cultivo de espécies em vasos propagaram-se. Nesses tipos de sistemas, faz-se necessário a utilização de equipamentos e insumos modernos, como o caso do substrato. Na área de propagação de plantas, o substrato cumpre a função de substituir o solo, sendo o meio para o desenvolvimento das raízes, assim como fonte de água, oxigênio e nutrientes (CARNEIRO, 1995). A composição de um substrato pode conter material de origem animal, vegetal ou mineral, os quais podem ser mesclados a outros materiais ou não. A qualidade do substrato deve ser superior à do solo, especialmente quanto a determinadas características como permeabilidade, aeração, poder de tamponamento (pH), estabilidade de estrutura e capacidade de retenção de nutrientes. Além disso, o substrato deve estar livre de patógenos e de pragas, de sementes e propágulos de plantas daninhas, ademais de possibilitar a boa agregação e distribuição das raízes. Por conseguinte, para formular um substrato, é indispensável saber suas características físicas (porosidade capacidade de retenção de umidade, densidade aparente), químicas (salinidade, pH, capacidade de troca de cátions, etc.) e biológicas (insetos, fungos, presença de sementes e outras). Para formulação de substratos no Brasil são utilizadas várias matérias orgânicas e minerais, como cascas de árvores e frutos, restos de folhas, vermiculita, resíduos agroindustriais, compostos orgânicos, turfas, e outros (SOUZA, 2000).

Uma das principais substâncias do planeta é a água, outro elemento importante aqui apresentado. A água está presente na proporção de 80 a 95 % dos tecidos metabolicamente ativos de plantas em crescimento e de 35 a 75 % em tecidos lenhosos. A água é o solvente ideal para o acontecimento dos processos biológicos. Quando as células das plantas absorvem água, no interior delas é exercida uma força conhecida como turgor, responsável por muitos processos fisiológicos como as trocas gasosas nas folhas e o alongamento celular. Na presença de estresse hídrico, acontece a perda de turgidez, o que acarreta em fechamento estomático, diminuição do processo fotossintético e da respiração, afetando também muitos processos básicos do metabolismo. Para além dessas funções, este elemento também está envolvido com o movimento de produtos orgânicos da fotossíntese e de nutrientes no solo e nas plantas, com a locomoção de gametas para a fecundação e com outras funções (PIMENTA, 2008). Visto isso, percebe-se que um teor de água adequado à exigência da planta no solo é crucial para seu crescimento, sendo este afetado por questões como irrigação e precipitação, bem como por capacidade de armazenagem do solo e por perdas que podem acontecer por evaporação e transpiração.

Em suma, o conhecimento sobre as relações entre os diferentes fatores citados e as plantas é fundamental para a compreensão de seu desenvolvimento.

CAPÍTULO 2 – MATERIAL E MÉTODOS

4 MATERIAL E MÉTODOS

4.1 Cultivo das espécies

As espécies salsa (*Petroselinum crispum* cv. 'Lisa Stella'), manjericão verde (*Ocimum basilicum* var. *minimum* cv. 'Grecco a Palla') e manjericão roxo (*Ocimum basilicum* cv. 'Vermelho Rubi') foram cultivadas sob os seguintes sistemas de cultivo: campo aberto (produção orgânica), em estufa em vaso e *indoor*, sendo que nos três tipos de cultivo não foram utilizados quaisquer tipos de defensivos químicos. Primeiramente, as espécies foram cultivadas em sementeiras (preenchidas com substrato para plantas Carolina Soil[®]) para a produção de mudas, sob luz natural, na estufa do Laboratório de Pós-colheita do Departamento de Horticultura e Silvicultura/Faculdade de Agronomia da Universidade Federal do Rio Grande do Sul (Porto Alegre, RS/Brasil) – 30° 04' 14.0 de latitude sul e 51° 08' 23.6 de longitude oeste. As sementes de salsa e manjericão verde utilizadas foram da empresa Isla Sementes[®], e as de manjericão roxo da empresa Feltrin Sementes[®].

As sementes de salsa foram semeadas (20/12/2018) em bandeja de poliestireno de 200 células (5 sementes/célula) contendo substrato CAROLINA SOIL[®], mantidas em sistema floating até o transplantio, o qual foi realizado aos 40 dias após a semeadura.

Para o cultivo das plantas utilizou-se um delineamento experimental inteiramente casualizado (DIC).

No caso do cultivo em estufa, foram usadas três plantas por vaso de 8 litros contendo substrato CAROLINA SOIL[®], tendo sido adicionados 400 g/m³ do adubo mineral PG mixTM (fórmula 14-16-18). Os vasos contendo as plantas foram dispostos sobre uma mesa em blocos de quatro linhas na bancada, com espaçamento de 0,30 m entre linhas e entre plantas. Sob este cultivo foram empregadas 48 plantas. A irrigação foi realizada diariamente com 150 mL/vaso. No sistema de cultivo em solo em campo aberto, as mudas foram transplantadas para local definitivo, no município de Dom Pedro de Alcântara (RS), nas seguintes coordenadas 29° 22' 36.0" latitude sul e 49° 51' 55.8" longitude oeste, onde foi usada adubação de cama de aviário (4 toneladas/hectare); foram transplantadas 3 plantas por cova, espaçadas de 30 em 30 cm, totalizando 27 plantas; além disso, antes de ser iniciado o transplantio, foi feita uma análise de solo. Quando necessário, a irrigação foi realizada por aspersão.

O cultivo *indoor* foi realizado na câmara fornecida pela empresa Plantário[®], onde foram transplantadas tres plantas por vaso de 1,7 litros. Os vasos foram preenchidos com

substrato, com a seguinte composição: 60 % substrato CAROLINA SOIL[®] e 40 % perlita, contendo também fertilizantes minerais de curta, média e longa absorção (um saco de 2 kg para 9 vasos contém 16 g de nitrato de cálcio, 8 g de nitrato de potássio, 2,4 g de fosfato monoamônico, 6,4 g de sulfato de magnésio, 0,16 g de uma mistura de micronutrientes e 0,48 g de ferro). Sob este cultivo foram empregadas 27 plantas. A irrigação automatizada era realizada 3 vezes ao dia, durante 15 minutos pelo equipamento. O fotoperíodo da câmara de cultivo foi de 18:6 horas de luz e escuro, e a radiação fotossinteticamente ativa (PAR) foi de 400 µmol.s⁻¹.m⁻². A câmara de cultivo *indoor* foi mantida em uma sala a temperatura constante de 20 °C. O ponto de colheita das plantas de salsa foi determinado em função do tamanho comercial (altura 25 cm). O espectro de emissão dos LEDs da câmara do sistema *indoor* utilizada neste estudo se encontra na Figura 4.



Figura 4 – Espectro de emissão dos LEDs da câmara do sistema indoor

O procedimento realizado com as outras espécies em estudo seguiu um processo similar ao descrito anteriormente. As sementes de manjericão foram semeadas (manjericão verde 27/09/2018 e manjericão roxo 27/11/2018) em bandeja de poliestireno de 200 células (2 sementes/célula) contendo substrato CAROLINA SOIL[®], mantidas em sistema floating até o transplantio, o qual foi realizado aos 30 dias após a semeadura no caso do manjericão verde e aos 20 dias para o manjericão roxo. No caso do cultivo em vaso em estufa, foram usadas duas plantas por vaso de 8 litros contendo substrato CAROLINA SOIL[®], onde foram adicionados 500 g/m³ do adubo mineral PG mix[™] (fórmula 14-16-18). Os vasos contendo as

plantas foram dispostos sobre uma mesa em blocos de quatro linhas na bancada, com espaçamento de 0,30 m entre linhas e entre plantas. Sob este cultivo foram empregadas 32 plantas. A irrigação foi realizada todos os dias com 200 mL/vaso.

No sistema de cultivo orgânico em solo em campo aberto, as mudas foram transplantadas para local definitivo, no município de Dom Pedro de Alcântara (RS), onde foi usada adubação de cama de aviário (4 toneladas/hectare); foram transplantadas duas plantas por cova, espaçadas de 30 em 30 cm, totalizando 18 plantas.

Por sua vez, o cultivo *indoor*, foi realizado na câmara fornecida pela empresa Plantário[®], onde foram transplantadas também duas plantas por vaso de 1,7 litros. Os vasos foram preenchidos com substrato, com a mesma composição utilizada para a salsa. Sob este cultivo foram empregadas 18 plantas. A irrigação automatizada e o fotoperíodo (18:6 horas de luz e escuro) foram os mesmos que no caso do cultivo da salsa. O ponto de colheita das plantas de manjerição foi determinado em função do tamanho comercial (altura 30 cm).

Na Tabela 8, estão discriminadas as condições de temperatura mínima e máxima, bem como a radiação fotossinteticamente ativa (PAR), em dias claros e nublados, nos diferentes sistemas de cultivo das três espécies estudadas.

Nome científico	Nome comum	Sistema de cultivo	T _{mín} - T _{máx} (°C)	PAR (µmol s ⁻¹ m ⁻²)	Semeadura	Transplantio	Colheita
Petroselinum crispum cv. 'Lisa Stella'	Salsa	Indoor	20	400		24/01/2019	8/02/2019
		Estufa	19 - 38	1400 - 450	20/12/2018	24/01/2019	20/02/2019
		Campo	24 - 26	1500 - 600		27/01/2019	05/03/2019
Ocimum basilicum var. minimum cv. 'Grecco a Palla'	Manjericão	Indoor	20	400	27/09/2018	25/10/2018	29/11/2018
		Estufa	19 - 35	1300 - 350		25/10/2018	07/12/2018
		Campo	24 - 26	1500 - 600		28/10/2018	02/01/2019
<i>Ocimum</i> basilicum cv. 'Vermelho Rubi'	Manjericão roxo	Indoor	20	400		14/12/2018	03/01/2019
		Estufa	20 - 40	1100 - 400	27/11/2018	14/12/2018	03/01/2019
		Campo	24 - 26	1800 - 600		16/12/2018	28/01/2019

Tabela 8 – Condições de temperatura mínima e máxima, bem como a radiação fotossinteticamente ativa (PAR), em dias claros e nublados, nos diferentes sistemas de cultivo das três espécies estudadas.

PAR: radiação fotossinteticamente ativa - média em dias claros e nublados

4.2 Colheita e preparação das amostras

Após realizada a colheita, as amostras foram transportadas até o Laboratório de Compostos Bioativos do Instituto de Ciência e Tecnologia de Alimentos da UFRGS (ICTA/UFRGS), em Porto Alegre (RS). As amostras foram, então, previamente congeladas e liofilizadas, para serem acondicionadas em embalagens plásticas a vácuo (FASTVAC[®]/F200 flash) e armazenadas em freezer a -18 °C até a realização das análises. Importante aqui é frisar que para a análise de compostos bioativos foram somente utilizadas as folhas das plantas.

4.3 Determinação dos parâmetros de desenvolvimento das plantas

Após a colheita das plantas, em todos os cultivos das espécies em estudo, no Laboratório de Pós-colheita do Departamento de Horticultura e Silvicultura/Faculdade de Agronomia da Universidade Federal do Rio Grande do Sul (Porto Alegre, RS/Brasil), foi determinada a área foliar, utilizando-se um integrador de área, modelo LI3100 da Licor, sendo utilizadas todas as folhas de cada planta. Foram avaliadas as seguintes características: altura das plantas; peso da massa fresca e seca da raiz; e peso da massa fresca e seca da parte aérea, com balança de precisão (0,01 g). Além disso, foi calculada a produtividade, como a relação entre a massa fresca total e a área de cultivo, os valores foram expressos em g/cm².

4.4 Reagentes e padrões

Todos os reagentes foram de grau analítico. Ácido clorídrico, ácido fórmico 85 %, ácido sulfúrico suprapuro, acetona, éter de petróleo, éter etílico foram obtidos pela Dinâmica Química Contemporânea[®] (São Paulo, Brasil). Reagentes grau HPLC como metanol, éter metil-terc-butílico (MTBE), acetonitrila, foram obtidos da Panreac AppliChem[®] (Barcelona, Espanha). O reagente de Folin-Ciocalteu foi adquirido da MediQuímica Indústria LTDA, o carbonato de sódio obtido da Vetec Química Fina LTDA (Rio de Janeiro, Brasil).

Padrões tais como β-caroteno, cianidina-3-glicosídeo, delfinidina-3-β-glicosídeo, Trolox (±)-6-Hydroxy-2,5,7,8-tetrametillcromane-2-carboxilic acid, radical 2,2'-azino-bis-(ácido 3-etilbenzotiazolina-6-sulfonico) (ABTS), ácido gálico, ácido cafeico e rutina foram obtidos da Sigma-Aldrich[®]; α-caroteno e zeaxantina da empresa Fluka Analytical[®] (Munique, Alemanha); e luteína da Indofine Chemical Company[®] (Nova Jersey, Estados Unidos). Cartuchos strata SPE C₁₈ (Phenomenex) foram obtidos da empresa Allcrom[®] (São Paulo, Brasil). O padrão de ácido ascórbico foi obtido da Neon Comercial[®] (São Paulo, Brasil).

A água utilizada foi do tipo ultrapura gerada pelo sistema Millipore (Milli-Q[®]). Os solventes e as amostras foram filtrados por membranas Millipore 0,45μm (Millex LCR 0,45 μm, 13 mm).

4.5 Teor de clorofila total e clorofila a e b

Foi utilizado um clorofilômetro portátil (ClorofiLOG, modelo CFL1030 da Falker) no momento da colheita diretamente nas folhas da base, nas medianas e nas mais externas (altos) em todas as plantas de cada cultivo.

4.6 Análise de vitamina C

Extração

A determinação de vitamina C foi baseada na metodologia proposta por Rosa et al., (2007), com algumas modificações. Realizou-se uma extração ácida, foi pesada 0,2 g de amostra liofilizada, a mesma foi homogeinizada em um Ultra-Turrax[®] (IKA, T25 digital) com 20 mL de ácido sulfúrico 0,05 M a 96 % durante 1 min, centrifugado (centrífuga Hitach CR21 GIII- HIMAC) a 25.400 *g* durante 15 minutos e, logo, o extrato obtido foi filtrado através de membranas Millipore 0,45µm.

Condições cromatográficas

As análises foram realizadas por HPLC, utilizando o cromatógrafo Waters Alliance (2695, Milford, MA, USA), equipado com um sistema de solvente quaternário de bombeamento, conectado a um detector de arranjo diodos (DAD 2996). Foi utilizada uma coluna polimérica C_{18} (250 mm x 4,6 mm diâmetro interno (d.i.), 5 µm). A fase móvel foi de ácido sulfúrico 0,05 M, com fluxo de 1 mL/min, volume de injeção de 10 µL e comprimento de onda de 254 nm. A vitamina C foi quantificada pela injeção do padrão de ácido ascórbico no dia da análise.

4.7 Análise de compostos bioativos

4.7.1 Carotenoides

Extração

A determinação de carotenoides foi feita de acordo com Mercadante & Rodriguez-Amaya (1998). As etapas principais foram: extração exaustiva dos pigmentos com acetona em um Ultra-Turrax[®] (IKA, T25 digital) e particionamento com éter de petróleo e éter etílico, seguidamente de saponificação com metanol 10 % KOH durante uma noite à temperatura ambiente. Após a remoção do álcali, o extrato foi concentrado em evaporador rotativo (Fisatom[®], Modelo 801) (T < 25 °C), seco em um fluxo de nitrogênio e armazenados no freezer (-18 °C) em tubos âmbar para posterior quantificação por cromatografia líquida de alta eficiência. Para a análise, o extrato seco foi diluído em éter terc-metil-butílico (MTBE), colocado em ultrassom (Unique, modelo USC 1400) por 15 minutos e filtrado em filtro (Millex LCR 0,45 μ m, 13 mm) para posterior injeção no cromatógrafo.

Condições Cromatográficas

As análises de quantificação foram realizadas em um cromatógrafo Agilent, série 1100 (Santa Clara, CA, EUA), equipado com um sistema de solvente quaternário de bombeamento (G1311A-DE14917573 Agilent Serie 1100, Waldbronn, Alemanha) e um detector UV-Visível (G1314B-DE71358944 Agilent Serie 1100, Waldbronn, Alemanha). Foi utilizada uma coluna de fase reversa C₃₀ polimérica (YMC, modelo CT99SO3-2546WT) de 250 mm x 4,6 mm (d.i.), 3 µm. A fase móvel foi constituída por água:metanol:MTBE, a partir de 5:90:5; atingindo em 12 minutos uma concentração de 0:95:5; em 25 minutos, 0:89:11; em 40 minutos, foi para 0:75:25, e, finalmente, 00:50:50, após um total de 60 minutos, com uma taxa de fluxo de 1 mL/min a 22 °C e um volume de injeção de 5 µL. Os espectros foram realizados entre 250 e 600 nm e os cromatogramas processados em um comprimento de onda de 450 nm. Curvas padrões para os carotenoides foram construídas nos intervalos apresentados na Tabela 9.

Tabela 9 – Faixas de concentração, r², limites de quantificação (LOQ) e detecção (LOD) dos padrões de carotenoides

Carotenoides	Faixa de concentração (µg/mL)	r ²	LOD (µg/mL)	LOQ (µg/mL)	
Luteína	1 - 65	0,9991	6,90 x 10 ⁻³	1,15 x 10 ⁻²	
Zeaxantina	1 - 40	0,9997	9,56 x 10 ⁻²	1,59 x 10 ⁻²	
α - caroteno	2 -25	0,9934	1,97 x 10 ⁻²	3,28 x 10 ⁻²	
β - caroteno	5 - 50	0,9998	6,53 x 10 ⁻²	10,89 x 10 ⁻²	

A identificação dos carotenoides foi realizada em cromatógrafo HPLC (Shimadzu[®], Kyoto, Japão), equipado com duas bombas (Shimadzu LC-20AD), um desgaseificador (Shimadzu DGU-203R) e forno de coluna (Shimadzu CTO-20A), conectado em série a um detector de arranjo de diodos (Shimadzu SPD-M20A) e conectado a um espectrômetro de

massas (MS) com analisador quadrupolo por tempo de voo (Q-Tof) e fonte de ionização química e a pressão atmosférica (APCI) (Bruker Daltonics, modelo micrOTOF-QIII, Bremen, Alemanha). A coluna utilizada foi uma C_{30} YMC Carotenoid (Irlanda), 250 x 4,6 mm (d.i.), 5 µm. Para os carotenoides, a análise seguiu o método proposto por Rodrigues et al. (2013), na qual foram utilizadas como fases móveis: A – metanol e B – éter metil-terc-butílico (MTBE). A separação foi obtida usando um gradiente linear de 5 % a 30 % B em 30 minutos, em 50 minutos passou para 50 % de B e foi mantido até 60 min. Em 62 minutos, voltou para a condição inicial 5 % de B e se manteve por 5 minutos. O fluxo foi de 0,9 mL/min e o volume de injeção foi de 20 µL.

4.7.2 Compostos fenólicos não antociânicos

Extração

A extração seguiu a metodologia descrita por Rodrigues et al. (2013), com modificações. Uma extração exaustiva foi realizada por 2 minutos no Ultra-turrax (IKA®, T25 digital 1/min x 1000), adicionando-se a 0,2 g de amostra liofilizada 20 mL de uma mistura de metanol com água destilada (80:20 %; v/v), à temperatura ambiente (22 ± 3 °C). Após, o extrato foi centrifugado (Hitachi, Himac, CR21 GIII, Japão) a 10.000 g durante 10 minutos a 20 °C, e o sobrenadante foi transferido para um balão volumétrico âmbar. Esse procedimento foi realizado em triplicata e repetido três vezes para a salsa, o manjerição verde e o roxo, até a ausência de cor. Os sobrenadantes foram combinados obtendo um volume final de 60 mL (extrato de compostos fenólicos). A ausência de compostos fenólicos no sobrenadante foi verificada previamente utilizando o reagente Folin-Ciocalteau, seguindo a metodologia proposta por Singleton e Rossi (1965) e Becatti et al. (2010), com modificações. Foram adicionados 1375 µL do reagente de Folin-Ciocalteu (Sigma-Aldrich[®], St. Louis, EUA) preparado (375 mL de água para 37,5 mL do reagente) a 25 µL de amostra, que reagiram por 8 minutos. Em seguida, foram adicionados 600 µL de água destilada e 500 µL de carbonato de sódio, a 20 %. A solução foi homogeneizada e deixada em repouso durante 30 minutos ao abrigo da luz. A absorbância foi medida a 750 nm à temperatura ambiente em espectrofotômetro (Shimadzu UV-Vis 1800/08302). Para a quantificação dos compostos fenólicos, os extratos foram rotaevaporados (Fisatom[®], Modelo 801) (T < 25 °C), e avolumados com a fase móvel A (água Milli-Q e ácido fórmico, na proporção de 99,9:0,1 %, v/v) para 25 mL em balão volumétrico. Após, as amostras foram filtradas por membranas Millipore 0,45 µm (Millex LCR 0,45 µm, 13 mm) e injetadas para análise em um cromatógrafo.

Condições cromatográficas

As análises de quantificação foram realizadas utilizando um cromatógrafo Waters Alliance (2695, Milford, MA, USA), equipado com um sistema de solvente quaternário de bombeamento, conectado a um detector de arranjo diodos (DAD 2996). Para a salsa, a coluna utilizada foi uma C₁₈ Merck, 250 mm x 4,6 mm, 5 μ m (Allcrom[®], São Paulo, Brasil) e para o manjericão verde e o roxo, a coluna utilizada foi uma C₁₈ Phenomenex Synergi TM, 250 mm x 4,6 mm, 4 μ m (Allcrom[®], São Paulo, Brasil).

A identificação dos compostos fenólicos foi realizada em cromatógrafo HPLC (Shimadzu[®], Kyoto, Japão) equipado com duas bombas (Shimadzu LC-20AD), um desgaseificador (Shimadzu DGU-20A) e um forno de coluna (Shimadzu CTO-20A), conectado em série a um detector de arranjo de diodos (Shimadzu SPD-20A) e conectado a um espectrômetro de massas (MS) com analisador quadrupolo por tempo de voo (Q-Tof) e fonte de ionização por electrospray (ESI) (Bruker Daltonics, modelo micrOTOF-QIII, Bremen, Alemanha). As colunas utilizadas para a salsa, o manjericão verde e o roxo foram as mesmas da quantificação.

Tanto para a quantificação quanto para a identificação dos compostos fenólicos nãoantociânicos, a fase móvel A foi constituída por uma mistura de água Milli-Q e ácido fórmico (99,9:0,1 %, v/v) e a fase móvel B por uma mistura de acetonitrila e ácido fórmico, nas mesmas proporções (99,9:0,1%, v/v), em um gradiente linear de 99:1 (v/v) fase móvel A/B para 50:50 (v/v) A/B, por 50 minutos; e então 50:50 (v/v) A/B para 1:99 (v/v) A/B, por 5 minutos. Essa razão foi mantida por mais 5 minutos. A taxa de fluxo da corrida foi de 0,7 mL/min a 29 °C e o volume de injeção de 20 µL. Os espectros UV-Vis foram obtidos entre 200 e 600 nm, e os cromatogramas foram processados a 280, 320 e 360 nm.

Os espectros de massas foram adquiridos a partir de uma varredura de m/z 100 a 1000. Os parâmetros de MS foram definidos da seguinte forma: fonte de ESI em modo negativo; tensão capilar, 3000 V; temperatura do gás secante (N₂), 310 °C; taxa de fluxo, 0,35 L/min; gás de nebulização, 4 bar. MS^2 foi configurado no modo automático.

Os compostos fenólicos foram identificados com base na ordem de eluição e no tempo de retenção na coluna, e de características do espectro UV-Vis e de MS e MS² e dados

disponíveis na literatura. Além disso, os compostos foram quantificados utilizando curvas analíticas de padrões, conforme Tabela 10.

Coluna	Padrões de fenólicos	Faixa de concentração (mg. L ⁻¹)	r ²	LOD (mg/L)	LOQ (mg/L)
C18 Phenomenex	Ácido gálico 280 nm	5 - 12	0,9992	0,2452	0,7430
	Ácido cafeico 320 nm	5 - 12	0,9994	0,2167	0,6572
	Rutina 360 nm	5 - 12	0,9989	0,2904	0,8800
C18 Merck	Ácido gálico	1 - 120	0,9993	4,0117	12,1566
	Ácido cafeico	1 - 120	0,9996	2,8828	8,7357
	Rutina	1 - 120	0,9966	8,3454	25,2890

Tabela 10 – Faixas de concentração, r², limites de quantificação (LOQ) e detecção (LOD) dos padrões de compostos fenólicos

4.7.3 Compostos fenólicos antociânicos - Antocianinas no manjericão roxo

Extração

As antocianinas foram extraídas de acordo com Vargas et al. (2016), com modificações. Para a extração exaustiva, 0,1 g de amostra liofilizada foram diluídas em 20 mL de uma solução metanólica de HCl 1%, e homogeinizadas em Ultra-Turrax[®]. Após, a solução foi filtrada a vácuo. Esse procedimento foi realizado em triplicata e repetido cinco vezes, até a ausência de cor. Finalmente, o extrato foi rotaevaporado (Fisatom[®], Modelo 801) (T < 25 °C) para remoção do metanol, e avolumados com a fase móvel A (agua Milli-Q e ácido fórmico, na proporção de 96:4 % v/v) para 10 mL em balão volumétrico. Após isso, o extrato de antocianinas foi filtrado em filtro (Millex LCR 0,45 μ m, 13 mm) para posterior injeção no cromatógrafo.

Condições cromatográficas

As análises de quantificação foram realizadas seguindo metodologia proposta por Vargas et al. (2016), com modificações, utilizando um cromatógrafo (Agilent[®], Série 1100, Santa Clara, EUA) equipado com um sistema de bomba quaternária e um detector UV-visível; a coluna utilizada foi de fase reversa C₁₈ Shim-pak CLC-ODS (250 x 4,6 mm (d.i.), 5 μ m); a

fase móvel A foi constituída por água Milli-Q e ácido fórmico (96:4 % v/v), e a fase móvel B, de 100 % metanol. A separação foi obtida utilizando um gradiente linear de ácido fórmico aquoso 4 % e metanol, na proporção de 85:15 (v/v) a 20:80, em 25 minutos, sendo mantida essa proporção isocrática por 15 minutos. O fluxo da fase móvel foi de 1 mL/min, o volume de injeção foi de 5 μ L e a temperatura da coluna mantida em 29 °C. Os cromatogramas foram processados a 520 nm. Para a quantificação das antocianinas, curvas padrão foram construídas a partir dos padrões de cianidina-3-glicosídeo, delfinidina-3-glicosídeo, conforme Tabela 11.

Padrões de antocianinas	Faixa de concentração (µg/mL)	r ²	LOD (µg/mL)	LOQ (µg/mL)
Cianidina-3-glicosídeo	5 - 40	0,9987	1,69 x 10 ⁻²	2,81 x 10 ⁻²
Delfinidina-3β-glicosídeo	5 - 100	0,9944	1,16 x 10 ⁻¹	1,93 x 10 ⁻¹

Tabela 11 – Faixas de concentração, r², limites de quantificação (LOQ) e detecção (LOD) dos padrões de antocianinas

A identificação dos compostos antociânicos foi realizada em cromatógrafo HPLC (Shimadzu[®], Kyoto, Japão) equipado com duas bombas (Shimadzu LC-20AD), um desgaseificador (Shimadzu DGU-20A) e um forno de coluna (Shimadzu CTO-20A), conectado em série a um detector de arranjo de diodos (Shimadzu SPD-20A) e conectado a um espectrômetro de massas (MS) com analisador quadrupolo por tempo de voo (Q-Tof) e fonte de ionização por eletropray (ESI) (Bruker Daltonics, modelo micrOTOF-QIII, Bremen, Alemanha). A coluna utilizada foi a de fase reversa C₁₈ Merck (250 mmx 4,6 mm, 5 μ m); o fluxo da fase móvel foi de 0,8 mL/min; o volume de injeção foi de 5 μ L; e a fonte de ESI, em modo positivo.

Tanto para a quantificação quanto para a identificação das antocianinas, a fase móvel A foi constituída por uma mistura de água Milli-Q e ácido fórmico (96:4 % v/v), e a fase móvel B, de 100 % metanol.

Procedimentos de purificação SPE-C18

Os extratos antociânicos e não-antociânicos foram purificados conforme descrito por Rodriguez-Saona & Wrolstad (2001), com algumas modificações. Os cartuchos de extração em fase sólida (SPE) C_{18} (Strata, Phenomenex, Torrance, CA) foram previamente condicionados com metanol e água acidificada com HCl 0,01%. O cartucho foi carregado com a amostra. Os compostos polares foram eluídos com dois volumes de solução aquosa com HCl 0,01%. Os compostos fenólicos não-antociânicos foram eluídos usando acetato de etila e os antociânicos foram eluídos com metanol acidificado (com HCl 0,01%). Os extratos foram concentrados em rotaevaporador rotativo (30 °C), e as amostras foram reconstituídas em 1 mL da fase móvel A. Após isso, as amostras foram imediatamente injetadas no aparelho HPLC-DAD-MS/MS.

4.8 Capacidade antioxidante – Ensaio ABTS

A determinação da capacidade antioxidante foi realizada através da captura do radical livre ABTS^{*+}. (RE et al., 1999) Para obtenção do extrato, foram pesados 0,1 g de amostra, que foram homogeneizadas com 20 mL de metanol 50 % em Ultra-turrax, e deixado em repouso por 60 minutos em ambiente escuro. Posteriormente, o extrato foi centrifugado a 25.400 *g* por 15 minutos e o sobrenadante foi armazenado em balão âmbar de 50 mL. Esse mesmo processo foi repetido com acetona 70 % em lugar do metanol e, por último, o balão foi avolumado para 50 mL. Uma vez realizado o extrato, foram preparados tubos de ensaio com, no mínimo três diluições diferentes em triplicata. Uma alíquota de 100 μL, de cada diluição do extrato, foi transferida para tubos de ensaio com 1 mL do radical ABTS^{*+}, ao abrigo da luz; os tubos foram homogeneizados em agitador e foi realizada a leitura (750 nm), após 6 minutos da mistura. Os resultados foram expressos como μM de trolox/g amostra.

4.9 Análise estatística

Todas as análises foram realizadas em triplicata e os resultados foram submetidos à análise estatística utilizando ANOVA e para diferença entre as médias foi aplicado o teste de Tukey a 5% de significância, pelo Software Statística 12.

CAPÍTULO 3 - MANUSCRITO

Effects on Parsley's and Basil's Bioactive Compounds under Indoor, Greenhouse, and Field Cultivation

Manuscrito submetido ao periódico Journal of Agricultural and Food Chemistry e formatado segundo as especificações do periódico

Mariel de los Ángeles PROZ^a, Magnólia Aparecida Silva da SILVA^b, Eliseu RODRIGUES^a, Renar João BENDER^b, Alessandro de Oliveira RIOS^{a*}

^a Institute of Food Science and Technology, Federal University of Rio Grande do Sul (UFRGS). Avenue Bento Gonçalves, 9500, Prédio 43.212, Campus do Vale, Porto Alegre, RS, CEP 91501-970, Brazil.

^b Department of Horticulture and Forestry, Agronomy University of the Federal University of Rio Grande do Sul (UFRGS), Avenue Bento Gonçalves, 7712, Porto Alegre, RS, CEP 9154-000, Brazil.

ABSTRACT: The effects of three systems of cultivation (indoor, greenhouse, and organic field) on the composition of bioactive compounds in parsley (*Petroselinum crispum* cv. 'Flat Leaf'), green basil (*Ocimum basilicum* var. *minimum* cv. 'Greek'), and purple basil (*Ocimum basilicum* cv. 'Red Rubin') were evaluated. Among the three plants, the highest content of vitamin C was found in parsley from the field (103 mg/100 g fresh weight), 2.6 and 5.4 times higher than the indoor and greenhouse cultivation, respectively. In the case of carotenoids, the highest concentration was found in green basil (3743 µg/g dry weight) on the indoor system, around 2 times higher than the other two systems. Purple basil from the field presented the highest content of total phenolics (non-anthocyanics) as of anthocyanins. The major phenolic compound found in basil plants was rosmarinic acid, and most anthocyanins derived from cyanidin aglycone. The results suggest that different cultivation systems influence and modulate the concentration of bioactive compounds in plants, varying according to their class. Besides, the indoor system provides sufficient conditions for bioactive compounds synthesis; even though the highest antioxidant activity was observed on the plants of the organic open field system.

Keywords: parsley, basil, bioactive compounds, cultivation systems, mass spectrometry.

1 INTRODUCTION

The content of bioactive compounds of plants varies according to species or varieties. However, other factors influence, such as climate and technologies used during cultivation.¹ In the present study, three cultivation systems were compared in order to check theses assumptions.

Recently, new cultivation systems with absence of external environmental factors have emerged, what are called indoor cultivations. These came along with a new social and environmental dynamic set in the world, in which conventional planting is no longer the only possibility available for producers or consumers. On one side, the usage of this type of cultivation may represent an alternative to bring consumers closer to foods, as they can be grown and harvested at their dwellings, even within big cities. In favor of that panorama of new forms of planting, present-day studies evidence that urban areas are more densely inhabited than rural areas², and it is known that the world population is growing.

With the evolution of technologies, the indoor system (which may be used for home cultivation or for large-scale production) has been possible throughout the use of artificial lights. About that, several reports addressed the photosynthetic processes of plants submitted to either partial or total artificial lighting. Light-emitting diode (LED) lamps are one of the types of artificial light used on these methods of cultivation. Some studies indicate that exposure to different light wavelengths may lead to the synthesis of antioxidants and bioactive compounds, and consequently improve the quality of constituents present in plants.³

Aromatic herbs, subject of the present study, have been used since ancient times to impart aroma and flavor to food preparations, being also known for their medicinal and nutritional properties and for their capability to preserve food.⁴ The bioactive compounds present in these herbs play a key role on people's health.^{5–7} Some of them have already been identified in parsley (*Petroselinum crispum*), green and purple basil (*Ocimum basilicum*), including carotenoids, phenolic compounds, and ascorbic acid. Purple basil is proved to be an anthocyanin source.^{8–12} Aromatic herbs as a whole are gaining popularity, and, in the scientific field, research on their bioactive compounds and biological activities is also on the rise.¹³

Previous studies have analyzed bioactive compounds in parsley and basil. However, they often presented limitations, either lack of sampling or the usage of methods that only analyze the total contents of compounds, overestimating their concentration. The present research differs from previous ones exactly for performing an adequate sampling plan, and for having analyzed the bioactive compounds, on each case, in a depth and embracing way.

The research evaluates the bioactive compounds in three plants (parsley, green and purple basil) under three different cultivation systems, indoor (a chamber of domestic size), greenhouse, and organic field.

2 MATERIAL AND METHODS

2.1 Chemical and reagents

Analytical standards, including (all-*E*)- β -carotene, cyanidin-3-glucoside, delphinidin-3- β -glucoside, ABTS radical [2,2'-azino-bis-(3-ethylbenzthiazoline-6-sulfonicacid], Trolox ((±)-6-Hydroxy-2,5,7,8-tetramethylchromane-2-carboxylic acid), gallic acid, caffeic acid, and rutin, were purchased from Sigma-Aldrich[®] (St. Louis., USA). (all-*E*)- α -carotene and zeaxanthin were donated by Fluka Analitycal[®]; (all-*E*)-lutein was obtained from Indofine Chemical Company (New Jersey, USA); and standard ascorbic acid was acquired from Neon Comercial[®] (São Paulo, Brazil). Analytical grade reagents, such as hydrochloric acid, supra pure sulfuric acid, 85% formic acid, acetone, ethanol, methyl alcohol, petroleum ether, and ethyl ether, were obtained from Dinâmica Química Contemporânea[®] (São Paulo, Brazil), and cartridge strata SPE C₁₈ Phenomenex[®] from Allcrom (São Paulo, Brazil). High-performance liquid chromatography (HPLC) grade reagents, such as acetonitrile, methyl tert-butyl ether (MTBE), and methanol, were acquired from Panreac AppliChem[®] (Barcelona, Spain). The water, type I, was purified by a Milli-Q[®] system. The samples and solvents were filtered through Millipore 0.45 µm membranes (Millex LCR 0.45 µm, 13 mm).

2.2 Plant materials and growth conditions

Parsley (*Petroselinum crispum* cv. 'Flat Leaf'), green basil (*Ocimum basilicum* var. *minimum* cv. 'Greek'), and purple basil (*Ocimum basilicum* cv. 'Red Rubin') (**Figure 1**) were cultivated under the following growing systems: open field (organic cultivation), greenhouse, and indoor. The plants were grown in seed trays filled with Carolina Soil[®] substrate, by way of a floating system under natural light at the Post-harvest laboratory of the Horticulture and Forestry Department of the Agronomy University of the Federal University of Rio Grande do Sul (UFRGS) in Porto Alegre, Brazil (30° 04' 14.0 S, 51° 08' 23.6 W). The seeds were

purchased from the following seed companies: parsley and green basil from Isla Sementes[®]; and purple basil from Feltrin Sementes[®].

Parsley seeds were sown in seed trays of 200 cells (5 seeds/cell) using a floating system. Forty days after, the seedlings were transplanted.

Under the greenhouse system, three plantlets were transferred to 8 L-pot containing Carolina Soil[®] substrate and added 400 g/m³ of mineral fertilizer PG mix (formula 14-16-18). The pots were arranged in a randomized block design with four lines spaced 30 cm between lines and pots. In this system, 48 plants were used. The pots were watered every day with 150 mL/pot.

In the open field system, the seedlings were transplanted to a definitive location at the village of Dom Pedro de Alcântara, Rio Grande do Sul, Brazil (29° 22' 36.0" S, 49° 51' 55.8" W). Chicken manure was applied before the transplant (4 ton/ha). The soil had been analyzed previously. The seedlings were planted in a spacing 30 cm by 30 cm, resulting in a total of 27 plants (three plants per pit). Plants were irrigated by overhead spraying when necessary.

For the indoor system, in which the plants were cultivated in the Plantario[®]'s chamber, three plants were transplanted to 1.7 L-pot resulting in a total of 27 plants. The pots were filled with a substrate mixture of 60 % Carolina soil[®] substrate and 40% perlite. The pots were supplied with a mineral fertilizer at a dose of 2 kg for 9 pots. That amount of fertilizer contained 16 g of calcium nitrate, 8 g potassium nitrate, 2.4 g mono ammonium phosphate, 6.4 g magnesium sulfate, 0.16 g of a mixture of micronutrients, and 0.48 g of iron. The plants were irrigated three times a day for 15 minutes via an automated irrigation system. The photoperiod was 18 hours of light and a 6 hours interval of darkness. The photosynthetically active radiation (PAR) supplied 400 μ mol.s⁻¹.m⁻². The Plantario[®]'s chamber was kept in a room at a constant temperature of 20 °C.

The parsley plants, in the three cultivation systems, were harvested at a plant height of 25 cm, the commercial harvesting point (**Table 1**). The other species, green and purple basil, were grown under the same procedures. The basil seeds were sown and transplanted either 20 days or 30 days after sowing. In the three cultivation systems, two plants were planted in every pot or pit on the ground. In the greenhouse system, a total of 32 plants were used. These plants received 500 g/m³ of PG mixTM mineral fertilizer (formula 14-16-18). The pots were irrigated every day with 200 mL/pot. In the indoor and open field systems, a total of 18 plants were used. The plants were harvested at the commercial harvesting: plant height of 30 cm (**Table 1**).

After sample harvest and determination of plant development parameters, the tissue samples were lyophilized and packed in plastic vacuum packages (FASTVAC[®], F200 flash, São Paulo, Brazil) and stored at -18 °C in a freezer for further evaluations. For the analysis of bioactive compounds of the plants, only the leaves were used.

Figure 1 – Images of *Petroselinum crispum* cv. 'Flat Leaf'(A), *Ocimum basilicum* cv. 'Red Rubin'(B), and *Ocimum basilicum* var. *minimum* cv. 'Greek' (C)



Table 1 – Minimum and maximum temperature conditions, photosynthetically active radiation (PAR), on clear and cloudy days, in three different cultivation systems of the aromatic plant species.

Scientific name	Commom name	Cultivation system	T _{min} - T _{max} (°C)	PAR (µmol. s ⁻¹ . m ⁻²)	Seeding (m./d./y.)	Transplant (m./d./y.)	Harvest (m./d./y.)
Petroselinum crispum cv. 'Flat Leaf'	Parsley	Indoor	20	400	December	01/24/2019	02/08/2019
		Greenhouse	19 - 38	1200 - 450		01/24/2019	02/20/2019
		Field	24 - 26	1500 - 600	20, 2010	01/27/2019	03/05/2019
Ocimum	_	Indoor	20	400		10/25/2018	11/29/2018
<i>basilicum</i> var. <i>minimum</i> cv. 'Greek'	Green Basil	Greenhouse	19 - 35	1300 - 350	September	10/25/2018	12/07/2018
		Field	24 - 26	1500 - 600	27, 2018	10/28/2018	01/02/2019
Ocimum basilicum cv. 'Red Rubin'	D 1	Indoor	20	400	NT 1	12/14/2018	01/03/2019
	Purple	Greenhouse	20 - 40	1100 - 400	November	12/14/2018	01/03/2019
	Uasii	Field	24 - 26	1800 - 600	27, 2010	12/16/2018	01/28/2019

PAR: photosynthetically active radiation – average on clear and cloudy days. m./d./y.= month/day/year

2.3 Plant development parameters

After the plants had been harvested, the leaf area was determined by using an area integrator (Licor LI3100), comprising all leaves of each plant. The following characteristics were evaluated in them: plant height, weight of fresh and dry root mass, and weight of fresh and dry mass of aerial part. For those parameters a precision digital balance was used.

2.4 Chlorophyll measurement and extraction of ascorbic acid

A portable chlorophyll meter (ClorofiLOG, CFL1030 Falker) was used during the harvesting process directly from the base portion, median portion and top portion of the leaves of each plant.

The vitamin C extract was made based on the methodology proposed by ROSA et al.¹⁴, with modifications. For the acid extraction, 0.2 g of lyophilized sample was homogenized in an Ultra-Turrax[®] (IKA, digital T25) with 20 mL of 0.05 M sulfuric acid solution for 1 min. The extract was centrifuged (Hitach CR21 GIII-HIMAC) at 25.400 g for 15 min, and then filtered through a millipore 0.45 μ m membrane.

2.5 Extraction of carotenoids and phenolic compounds

The carotenoids were exhaustively extracted in triplicate, according to Mercadante & Rodriguez-Amaya's method.¹⁵ The carotenoid dried extract was dissolved in MTBE, sonicated (Unique, USC 1400 model) for 15 min, and filtered (Millex LCR 0.45 µm, 13 mm) for subsequent injection in the chromatograph.

The extraction of phenolic compounds (non-anthocyanics) was done following the methodology described by Rodrigues et al.¹⁶, with modifications. The absence of phenolic compounds in the supernatant was previously verified using the Folin-Ciocalteau reagent, following the methodology proposed by Singleton & Rossi¹⁷ and Becatti et al.¹⁸, with modifications. For the quantification of the phenolic compounds, the extracts were evaporated (Fisatom[®], Model 801) (T < 25 °C) and increased to a 25 mL volumetric flask. Subsequently, the extracts were filtered Millex LCR 0.45 µm and injected in the chromatograph.

The extraction of anthocyanins from purple basil was performed according to the methodology proposed by Vargas et al.¹⁹, with modifications. The compounds were exhaustively extracted from the freeze-dried sample (0.1 g) with 20 mL of a 1% methanolic HCl solution, and homogenized in ultra-turrax (IKA[®], digital T25 1/min x 1000). After that, the solution was vacuum filtered. This procedure was performed in triplicate and repeated five times until colorless state. Finally, the extract was evaporated (Fisatom[®], Model 801) (T < 25 °C) to remove methanol, and then increased to 10 mL in a volumetric flask. Afterwards, the anthocyanin extract was filtered on a Millex LCR 0.45 µm, and injected in the chromatograph.

Before identification analysis, the phenolic compounds extracts were purified.²⁰

2.6 HPLC-DAD-MS/MS Analysis

Vitamin C was quantified using a Waters Alliance (2695, Milford, MA, USA) chromatograph equipped with a quaternary solvent pump system connected to a DAD (DAD 2996), and a wavelength of 254 nm, following the method proposed by Rosa et al.¹⁴, with modifications. The separation was done with a C_{18} polymer column [250 mm x 4.6 mm, 5 µm]. The mobile phase was 0.05 M sulfuric acid at a flow rate of 1 mL/min, and an injection volume of 10 µL. Vitamin C was quantified by the injection of the ascorbic acid standard on the day of the analysis. The results were expressed in mg/100 g sample (dry weight and fresh weight).

To identify the carotenoids, the phenolic compounds (non-anthocyanics), and the anthocyanins, a Shimadzu[®] (Kyoto, Japan) HPLC apparatus was used. The HPLC system was equipped with two pumps (Shimadzu LC-20AD), a degasser (Shimadzu DGU-203R), and a column oven (Shimadzu CTO-20A), connected in series to a diode array detector (DAD) (Shimadzu SPD-M20A) and a mass spectrometer (MS), with a quadrupole flight time analyzer (Q-TOF) and atmospheric-pressure chemical ionization (APCI), and electrospray ionization (ESI) sources (model micrOTOF-QIII, Bruker Daltonics, Bremen, Germany).

The carotenoids were quantified using an Agilent[®] chromatography equipment, 1100 series (Santa Clara, CA, USA), equipped with a quaternary solvent pumping system (G1311A – DE14917573 Agilent 1100 Series, Waldbronn, Germany) with a UV-Vis detector (G1314B – DE71358944 Agilent 1100 Series, Waldbronn, Germany), and a fluorescence detector (G1321A- Agilent 1100 Series, Waldbronn, Germany). The carotenoids were separated according the method of Zanatta & Mercadante²¹, on a C₃₀ reversed-phase polymeric column (YMC, model CT99SO3-2546WT) [250 mm x 4.6 mm (inside diameter), 3 μ m] using as mobile phase water:methanol:MTBE. The chromatograms were processed at 450 nm, and the results were expressed in μ g/g sample (dry weight). The identification of carotenoids was done on a C₃₀ YMC column (Ireland) [250 mm x 4.6 mm, 5 μ m] using the same conditions as De Rosso and Mercadante²². The flow rate was of 0.9 mL/min, and the injection volume of 20 μ L.

The non anthocyanics phenolic compounds were quantified using the Waters Alliance chromatograph. For parsley, the phenolic compounds were separated on a C_{18} Merck (Allcrom[®], São Paulo, Brazil) [250 mm x 4.6 mm, 5 µm]. Green and purple basil were eluted on a C_{18} Phenomenex Synergi TM, Allcrom[®], São Paulo, Brazil) [250 mm x 4.6 mm, 4 µm]. For both quantification and identification of non-anthocyanic phenolic compounds, the

methodology used was that described by Rodrigues et al.¹⁶. A flow rate of 0.7 mL/min was used, the column temperature was set at 29 °C, and 20 μ L of the sample were injected. The obtained UV-Vis spectra were in the range of 200 and 600 nm, and the chromatograms were processed at 280, 320, and 360 nm. To acquired the mass spectra a scan range from m/z 100 to 1000 was used. The MS parameters were: ESI source in negative mode; capillary voltage, 3000 V; dry gas temperature (N₂), 310 °C; flow rate, 0.35 L/min; nebulizer gas, 4 bar. MS² was set in automatic mode.

The anthocyanins were quantified and identified according to Vargas et al.¹⁹, with modifications. For the quantification the Agilent[®] chromatograph was used. The compounds were separated with a reversed phase C_{18} Shim-pak CLC-ODS column [250 mm x 4.6 mm, 5 µm]. The mobile phase was a linear gradient of Milli-Q water/formic acid [96:4 (v/v)] (solvent A), and 100 % methanol (solvent B); from 85:15 (v/v) A/B to 20:80 (v/v) A/B in 25 min, maintaining this isocratic ratio for 15 min. The flow rate was 1 mL/min, the injection volume was 5 µL, and the column temperature was maintained at 29 °C. The chromatograms were processed at 520 nm. The anthocyanins were identified with a C₁₈ Merck reverse-phase column [250 mm x 4.6 mm, 5 µm]. The mobile phase flow was 0.8 mL/min, the injection volume was 5 µL, and the ESI source was in positive mode.

The analytical curve was linear for all standards of carotenoids, anthocyanins, and phenolic compounds (**Table 2**).

Standards	Work range	r^2	LOD	LOQ			
Carotenoids (µg/mL)							
Lutein	1 - 65	0.9991	6.90 x 10 ⁻³	1.15 x 10 ⁻²			
Zeaxanthin	1 - 40	0.9997	9.56 x 10 ⁻²	1.59 x 10 ⁻²			
α - carotene	2 - 25	0.9934	1.97 x 10 ⁻²	3.28 x 10 ⁻²			
β - carotene	5 - 50	0.9998	6.53 x 10 ⁻²	10.89 x 10 ⁻²			
Phenolic compounds (non anthocyanics) (mg/L)							
Gallic acid ^{<i>a</i>}	5 - 12	0.9992	0.2452	0.7430			
Caffeic acid ^{<i>a</i>}	5 - 12	0.9994	0.2167	0.6572			
Rutin ^{<i>a</i>}	5 - 12	0.9989	0.2904	0.8800			
Gallic acid ^b	1 - 120	0.9993	4.0117	12.1566			
Caffeic acid ^b	1 - 120	0.9996	2.8828	8.7357			
Rutin ^b	1 - 120	0.9966	8.3454	25.2890			
Anthocyanins (µg/mL)							
Cyanidin-3-glicoside	5-40	0.9987	1.69 x 10 ⁻²	2.81 x 10 ⁻²			
Delphinidin-3β-glicoside	5 - 100	0.9944	1.16 x 10 ⁻¹	1.93 x 10 ⁻¹			
a C Dhenomenon $b C$ March							

Table 2 – Work range, determination coefficients (r²), limit of detection (LOD), limit of quantification (LOQ) of standards

^{*a*} C_{18} Phenomenex. ^{*b*} C_{18} Merck.

The limits of detection and quantification, and the range of linearity are presented in **Table 2**. The bioactive compounds were identified based on the results of the following combined parameters: UV-vis spectral characteristics (λ_{max}), elution order, retention time, MS spectral features, and by comparison with data available in the literature.

2.7 Antioxidant capacity

The assay was determined by the capture of the ABTS free radical.²³ In order to obtain the extract, 0.1 g of the sample was homogenized with 20 mL of 50 % methanol in ultraturrax; after that, the extract was left for 60 min in the dark. Afterwards, the extract was centrifuged at 25.400 g for 15 min, and the supernatant was transferred to a 50 mL amber volumetric flask. This procedure was repeated with 70 % acetone instead of methanol, and finally the flask was increased up to 50 mL. Test tubes with three different dilutions of the extract were prepared in triplicate. In dim light, 100 μ L of each dilution extract were transferred to test tubes with 1mL of ABTS radical, then the tubes were homogenized on a shaker, and after 6 min had passed, the reading was made at 750 nm in a spectrophotometer (Shimadzu UV-Vis 1800/08302). The results were expressed in Trolox equivalent (μ M TE/g of sample) in dry weight.

2.8 Statistical analysis

The data were analyzed for variance (ANOVA) using the software Statistica 12.0 (STATSOFT Inc.). The averages were compared by Tukey's multiple range test at a significance of p < 0.05.

3 RESULTS AND DISCUSSION

3.1 Plant development parameters

The leaf area index of parsley plants showed a higher value for the indoor cultivation system, approximately 1.5 times higher than the greenhouse value, and 2 times higher than the field value (**Figure 2**). In the case of indoor system, the plants were different from their typical natural appearance. The leaves were much larger than usual and, furthermore, disproportionate. In addition, the leaf blade morphology of them had different characteristics

than those of the species. In the field and greenhouse cultivation, the leaf area value found of this plant was mainly due to a large number of small leaves, more evenly distributed on the stems, and with the characteristics of the species. It has been observed, for hydroponic lettuce (*Lactuca sativa* L. var. *capitata*), that the supply of white LEDs to a red-blue LED system increased plant growth because improved light penetration into the leaves for photosynthesis.²⁴ Besides, the proportion of the blue spectrum of the white LED may vary, and this appears to affect plant morphogenesis. In a study that evaluated growth and development in soybean (*Glycine max*, cv. Hoyt), radish (*Raphanus sativus*, cv. Cherry Belle), and wheat (*Triticum aestivum*, cv. Perigee), it was found that cool white LEDs with 28 % of blue light resulted in more compact plants and warm white LEDs with 11% of blue light, promoting leaf expansion and stem elongation.²⁵

Figure 2 - Leaf area of one plant of parsley, green basil and purple basil (A) and Productivity of the system of cultivation (B)



The green basil leaf area index was also higher in plants from the indoor system, 1.85 times higher when compared to the greenhouse data, and 1.2 times higher than in the field (**Figure 2**). The indoor plants did as well have small and large leaves at the same time.

The purple basil leaf area was higher in plants cultivated in the greenhouse, approximately 1.1 times higher than plants cultivated in the field, and 2 times higher than the leaf area of indoor plants (**Figure 2**). The plants cultivated into the greenhouse did develop more homogeneously and evenly. Plants from the indoor system were more disproportionate and presented evident differences in height.

These features of the leaves being much larger than usual in the indoor system are probably caused by the need of the plant to capture more light, and could also be associated with a shade-shifting behavior. Such phenomenon may be necessary in light competition when the plants are shaded by the surrounding vegetation.²⁶ Liu et al.²⁷ showed that most plants produce leaves with a higher leaf area when shaded. Furthermore, the leaf area index depends on the level of incident radiation, and also on the characteristics of interception of the canopy, which are functions of other factors, such as size, angle, and shape of the leaf, architecture and azimuthal orientation of the plant.²⁸

The plants grown inside the Plantário[®]'s chamber had higher productivity than the plants of the other cultivation systems (**Figure 2**). Parsley from the indoor cultivation reached higher productivity, greater efficiency in mass accumulation per area, 7 times more than the parsleys from the greenhouse and field cultivation. Basil from the indoor system had a productivity that was approximately 11 and 8 times higher than the greenhouse and field cultivation systems, respectively. Purple basil from the indoor system reached a productivity that was 3.5 and 3.8 times higher than the greenhouse and field cultivation, respectively.

Parsley plants showed no significant difference (p > 0.05) between the averages of the dry weight of leaves, in the three cultivation systems. The same result was determined on the averages of the dry weight of stems. Regarding roots, the greenhouse cultivation presented dry weights that differed significantly (p < 0.05) from the averages of root dry weight of plants of both the indoor and the field cultivation systems (**Figure 3**).

Green basil plants leaf dry weight was not significantly different (p > 0.05) in plants from either cultivation systems. The average of the dry weight of stems of basil plants cultivated in the field was 1.85 and 2.16 times higher when compared to the values of the indoor and greenhouse systems, respectively. In relation to the roots, the average value of plants from field cultivation was 4.56 times higher than the values determined from plants of the other two cultivation systems: indoor and greenhouse (**Figure 3**).

The average of the dry weight of leaves of purple basil cultivated in the field or in a greenhouse differed significantly (p < 0.05) in comparison to the dry weights from plants of the indoor system. Similar results were observed for the stems. Regarding the roots, the average of the dry weight of roots from plants of the field cultivation was 3.67 and 1.83 times higher than the root dry weight of plants from the indoor and greenhouse systems, respectively.



Figure 3 - Dry weight of leaves, stems, and roots of parsley (A), green basil (B), and purple basil (C)

Studies point out that plants that grow under intense radiation have a higher metabolism, and, therefore, they have higher dry matter production.²⁹

3.2 Chlorophyll and ascorbic acid contents

Parsley plants cultivated in the indoor system presented a total chlorophyll content of 1.25 and 1.7 times higher than the contents of plants from the greenhouse and the field cultivation, respectively. As for green basil, the contents of chlorophylls determined in plants from all the cultivation systems did not differ. Nonetheless, total chlorophyll of purple basil plants cultivated in the field was significantly different (p < 0.05) in comparison to the contents in plants from the indoor system (**Table 3**).

The higher accumulation of total a and b chlorophylls of parsley, grown in the indoor chamber, as well as of green basil plants, may be ascribed to the lower light intensity in the indoor cultivation setting off a compensatory effect of the plant to smaller amounts of irradiance available.³⁰ The higher photosynthetic rates may have resulted from increases in

chlorophyll a and b contents. In contrast, this may have helped out for higher growth observed in the indoor cultivation system, especially regarding light uptake.

The lower chlorophyll concentration found in purple basil in indoor cultivation may have been due to a limited light absorption (white LEDs have a higher light in the blue region) that influenced, at the same time, the biosynthesis of anthocyanins, which also absorb light in the photosynthetic region of the spectrum.^{31,32} In relation to the field cultivation, purple basil had a higher chlorophyll level as a result of the full and dynamic daylight spectrum, *i.e.* the photon flux covers all the wavelengths.

	System of cultivation	Total chlorophyll	Chlorophyll a	Chlorophyll b	Vitamin C (mg/100 g DW)	Vitamin C (mg/100 g FW)
Parsley	Indoor	41.74 ± 4.70 ^{<i>a</i>}	33.03 ± 4.56 ^{<i>a</i>}	8.70 ± 1.65 ^{<i>a</i>}	190.09 ± 10.51 ^b	39.69 ± 2.19 ^b
	Greenhouse	33.52 ± 5.02 ^b	27.40 ± 4.61 ^{<i>a</i>}	6.12 ± 1.38 ^b	104.42 ± 3.39 ^c	19.22 ± 0.62 ^c
	Field	24.58 ± 9.34 °	19.03 ± 8.60 ^b	5.55 ± 1.43 ^b	502.02 ± 5.24 ^a	103.27 ± 1.08 ^{<i>a</i>}
	Indoor	33.30 ± 4.86 ^a	26.21 ± 3.35 ^a	$7.08 \pm 1.60^{\ a, \ b}$	134.89 ± 9.68 ^a	11.38 ± 0.82 ^b
Green Basil	Greenhouse	28.70 ± 4.20 ^{<i>a</i>}	23.15 ± 2.95 ^a	$5.55 \pm 1.47~^b$	134.24 ± 2,37 ^a	14.24 ± 0.25 ^{<i>a</i>}
	Field	32.77 ± 4.68 ^a	25.46 ± 4.16 ^{<i>a</i>}	7.63 ± 1.48 ^{<i>a</i>}	116.09 ± 5.15 ^b	13.77 ± 0.61 ^a
Purple basil	Indoor	40.85 ± 3.19 ^b	30.59 ± 2.14 ^a	10.26 ± 1.07 ^b	146.95 ± 7.54 ^a	$12.95 \pm 0.66^{a,b}$
	Greenhouse	43.16 ± 2.37 ^{<i>a</i>,<i>b</i>}	31.64 ± 1.36 ^a	$11.48 \pm 1.10^{\ a, \ b}$	136.85 ± 8.75 ^{<i>a</i>, <i>b</i>}	13.30 ± 0.85 ^{<i>a</i>}
	Field	44.97 ± 3.66 ^a	32.38 ± 2.08 ^a	12.57 ± 1.62 ^{<i>a</i>}	123.60 ± 7.29 ^b	11.69 ± 0.69 ^b

Table 3. Content of total chlorophyll, chlorophyll a and b - Content of vitamin C

The Chlorofi LOG, like all electronic chlorophyll meters, presents its measurement with adimensionless index. In the case of Chlorofi LOG, this index is called Falker chlorophyll index (ICF). Vitamin C results are expressed in mg/100g of sample dry weight (DW), and mg/100 g of sample fresh weight (FW). Values are the average of three replications (\pm standard error). Different superscripts indicate significant difference (p < 0.05).

The ascorbic acid content in parsley plants of the field was 2.6 times higher than the content of ascorbic acid in plants grown in the indoor system, and 5.4 times higher when compared to the contents found in plants of the greenhouse (**Table 3**). In parsley plants grown in the field, 103.27 g ascorbic acid/100 g fresh weight (FW) were determined. That value is similar to those found in the studies of Kopec³³ (136.90 mg/100 g FW) and Zenoozian³⁴ (130 mg/100 g FW). In a trial in which parsley of the cv. Petra was cultivated directly in the soil, and samples analyzed immediately after harvest, 172.63 mg ascorbic acid/100 g FW were determined.³⁵

Green and purple basil plants cultivated in the greenhouse system presented the highest content of vitamin C on a fresh weight basis. In the case of green basil, there was no significant difference in comparison to the data found in the field cultivation (13.77 mg/100 g FW). The same happened with purple basil in relation to the indoor system (**Table 3**). In a study, the levels of ascorbic acid in fresh aerial parts of seven different varieties of basil grown in different seasons of the year ranged from 3.43 mg/100 g FW to 22.2 mg/100 g FW.¹¹ Dumbrava et al.³⁶ found even higher contents of the vitamin in basil leaves (27.05 mg/100g FW).

Ascorbic acid, which is an antioxidant, is related to several processes, such as photoprotection and resistance to environmental stresses.³⁷ Some studies with plants indicate that the capability of increasing ascorbic acid biosynthesis or the activity of enzymes related to this vitamin is associated with stress tolerance to adverse environmental conditions.^{38,39} Researches that carried out on the pathway of ascorbic acid biosynthesis showed that its concentrations are regulated by demand. In situations of high light intensity, for example, ascorbic acid concentrations in leaves increase.⁴⁰

Little is known about specific aspects of the ascorbic acid metabolism in plants,³⁷ as about the role of environmental stress for the regulation of vitamin C concentrations.⁴⁰ In the present study, the high content of ascorbic acid seen in parsley plants from the field may be explained by both, light absorption (through biosynthesis), and environmental stress, which may have elevated the ascorbic acid demand of the plants to an optimum level.⁴⁰

The chromatograms of ascorbid acid of parsley, green and purple basil are presented in supporting information.

3.3 Carotenoids

Eleven carotenoids from parsley and green basil, and twelve from purple basil plants were separated; nine carotenoids from parsley, ten from green basil, and eleven from purple basil were identified or tentatively identified (**Tables 4, 5, and 6**, respectively). The MS and MS/MS spectrum figures are presented in supporting information. The carotenoid profile for each studied sample of the three species was the same in all cultivation systems. The main carotenoids in the three species were β -carotene and lutein.

In the case of parsley, the plants cultivated in the indoor system presented a higher total carotenoid content (2620.87 μ g/g dry weight (DW)) than the content of the greenhouse and field plants. The β -carotene value of indoor system was 22 and 30 % higher than the

concentration determined in the greenhouse and field cultivation, respectively. Considering its fresh weight (11,291 μ g/100 g FW), that concentration is higher than data found in other studies with parsley. Daly et al.⁴ informed a concentration of 4107 μ g/100 g FW, and Batista et al.⁴¹, of 6232.5 μ g/100 g FW. Lutein content in plants of the indoor system was 25 % higher than parsley plants from the field cultivation, and almost 100 % higher when compared to the greenhouse parsley plants.

As for green basil, the plants cultivated in the indoor system (3742.89 μ g/g DW) had a total carotenoid content of approximately 2 times higher than the values observed in plants from the greenhouse and the field. The β -carotene content of the green basil plants from the indoor system was approximately 2.4 times higher than the concentrations determined in greenhouse and field green basil plants. The lutein content in the indoor system plants was 1.6 times higher than the concentrations determined in the other two systems. In the present study, the β -carotene content of the indoor system green basil plants (2035.12 μ g/g DW), considering dry weight (DW), was higher when compared to the data observed in Thai basil (590 μ g/g DW)⁴²; even though not much higher when compared with data determined in the greenhouse plants (842.71 μ g/g DW) and in the field cultivation system (885.12 μ g/g DW).

The total carotenoid content in purple basil plants was very noticeable in the greenhouse system (2090.82 μ g/g DW). The β -carotene concentration in those plants grown in the same system did not differ significantly from the concentration determined in purple basil plants from the indoor system. Both values of β -carotene were 23 % higher than the value determined in purple basil plants grown on the field. The lutein content found in purple basil plants from the field corresponded to 10 and 31 % higher than the content of the indoor and greenhouse systems, respectively. Purple basil β -carotene contents in the greenhouse (1,118.49 μ g/g DW) and in the indoor (1,109.49 μ g/g DW) systems were higher than the data determined in Osmin Purple basil (610 μ g/g DW)⁴², although not significantly higher when compared to the data observed in purple basil plants in the field system (904.80 μ g/g DW).
Peak	Rt	λ _{max}	Theorical (m/z)	Experimental (m/z)	MS/MS fragmentation	%	%	Error	Molecular	Assignment	PA	RSLEY - Concentra (µg/g dry basis)	ation	— Ref.
nº	(min)	(nm)	$[M + H]^+$	$[M + H]^+$	(m/z)	III/II	A _B /A _{II}	(Δ ppm)	formula	identification	Indoor	Greenhouse	Field	iten.
1	7.6	414, 438, 467	601.4251	601.4317	-	89	-	- 10.8	C40H56O4	all- <i>trans</i> - neoxanthin I	< LOQ	N. D.	N. D.	[22]
2 ^{<i>A</i>}	8.4	411, 435, 463	601.4251	601.4306	583 (36), 565 (16), 541 (80), 491 (17), 367 (7)	82	-	- 9.2	C40H56O4	all- <i>trans</i> - neoxanthin II	103.84 ± 0.73 ^a	57.47 ± 2,06 ^b	100.97 ± 10.46 ^a	[22]
3	8.9	395, 420, 446		585.4318	491 (56), 375 (7)	100	-	-	-	Not identified	< LOQ	<loq< td=""><td>N. D.</td><td></td></loq<>	N. D.	
4 ^{<i>A</i>}	10.2	416, 440, 470	585.4302	585.4337	567 (27), 549 (15), 351 (20)	34	-	- 5.9	$C_{40}H_{56}O_3$	all- <i>trans</i> - antheraxanthin	73.83 ± 4.44 ª	57.47 ± 1.00 ^b	N. D.	[^{66,67}]
5 ^{<i>B</i>}	12.8	418, 444, 471	569.4353	551.4339 (source); 569.4409	551 (57), 533 (4), 476 (18), 431(44), 338 (27)	61	-	- 9.9	$C_{40}H_{56}O_2$	all- <i>trans</i> -lutein	780.52 ± 58.20 ª	406.28 ± 30.90 °	621.85 ± 2.20 ^b	[22]
6 ^{<i>D</i>}	15.1	420, 448, 475	569.4353	569.4381	551 (20), 533 (4), 477 (13), 337 (18)	30	-	- 4.9	$C_{40}H_{56}O_2$	all- <i>trans</i> - zeaxanthin	79.81 ± 5.14 ^b	83.70 ± 10.68 ^b	236.70 ± 3.68 ^a	[22]

Table 4. Carotenoid content of parsley (Petroselinum crispum cv. 'Flat Leaf'). Chromatographic, UV-Vis, and mass spectroscopy characteristics.

Peak	Rt	λmax	Theorical	Experimental	MS/MS fragmentation	%	%	Error	Molecular	Assignment	PA	RSLEY - Concentrat (µg/g dry basis)	tion	Ref
nº	(min)	(nm)	$(M + H)^{+}$	$[M + H]^+$	(m/z)	III/II	Ab/Aii	(Δ ppm)	formula	identification	Indoor	Greenhouse	Field	Kei.
7	26.9	334 , 422, 446, 475	537.4455	537.4489	444 (9)	16	44	- 7.5	C40H56	15-cis-β- carotene	<loq< td=""><td><loq< td=""><td><loq< td=""><td>[²²]</td></loq<></td></loq<></td></loq<>	<loq< td=""><td><loq< td=""><td>[²²]</td></loq<></td></loq<>	<loq< td=""><td>[²²]</td></loq<>	[²²]
8 ^A	28.2	335 , 419, 442, 469	537.4455	537.4489	444 (18)	20	24	- 6.3	C40H56	13- <i>cis</i> -β- carotene	64.28 ± 6.07 ^{<i>a</i>}	55.40 ± 2.60 ^a	54.51 ± 3.61 ^a	[22]
9 C	30.6	416, 443, 471	537.4455	537.4499	-	67	-	- 8.2	C40H56	all- <i>trans</i> -α- carotene	21.93 ± 6.07 ^a	< LOQ	< LOQ	[22]
10 ^A	34.8	423, 451, 476	537.4455	537.4517	444 (19)	25	-	- 11.5	C40H56	all- <i>trans</i> - β- carotene	1337.76 ± 98.92 ^a	1094.25 ± 90.39 ^b	1029.09 ± 78.63 ^b	[22]
11 ^A	37	339 , 420, 445, 471	537.4455	537.4495	457 (9), 444 (17)	29	11	- 7.5	C40H56	9- <i>cis</i> -β- carotene	158.91 ± 5.03 ^a	121.61 ± 6.08 ^b	120.90 ± 9.49 ^b	[22]
Total (µg/g	l caroten dry basi	oids s)									2620.87 ± 79.55 ^a	1876.18 ± 65.94 °	2164.02 ± 87.50 ^b	

Results expressed in $\mu g/g$ dry basis. Values are the mean of three replications (± standard error). Superscripts in uppercase: the peaks were quantified as β -carotene equivalents (A), lutein equivalents (B), α -carotene equivalents (C), and zeaxanthin equivalents (D). Different superscripts in the same line indicate significant difference (p < 0.05). N.D.: not detected. < LOQ: value lower than the limit of quantification. Ref.: reference.

Peak	R _t	λmax	Theorical (m/z)	Experimental	MS/MS fragmentation	%	%	Error	Molecular	Assignment	GREE	N BASIL – Concer (µg/g dry basis)	ntration	Ref
nº	(m n)	(nm)	$[M + H]^+$	$[M + H]^+$	(m/z)	III/II	AB/AII	(Δ ppm)	formula	identification	Indoor	Greenhouse	Field	Kei.
1 A	7.4	413, 438, 467	601.4251	601.4217	583 (29), 565 (6), 509 (10), 491 (15), 367 (7)	89	-	5.7	C40H56O4	all- <i>trans</i> - neoxanthin I	340.42 ± 31.40 ^a	186.23 ± 20.20 ^b	70.45 ± 12.43 ^c	[22]
2 ^{<i>A</i>}	8.5	416, 443, 465	601.4251	601.4230	583 (22), 565 (5), 509 (15), 491 (23), 367 (8)	78	-	3.5	C40H56O4	all- <i>trans</i> - neoxanthin II	126.26 ± 7.73 ^a	76.19 ± 11.58 °	101.70 ± 13.43 ^b	[²²]
3	8.8	395, 419, 446, 466		585.4225	491 (64)	Mix (N.C.)	-			Not identified	71.44 ± 8.80^{b}	108.97 ± 3.52 ^a	< LOQ	
4 ^{<i>A</i>}	9.7	417, 441, 468	585.4302	585.4230	567 (24), 549 (12), 493 (11), 351 (16)	37	-	12.4	C40H56O3	all- <i>trans</i> - antheraxanthin	132 31 + 18 31 ^a	$100.98 + 8.60^{b}$	48 47 + 0 25 °	[⁶⁶]
	10.5	329 , 414, 439, 467.	601.4251	601.4313	583 (10), 565 (3), 491 (8)	33	42	- 10.3	C40H56O4	cis-violaxanthin	152.51 ± 10.51	100.90 ± 0.00	+0.+7 ± 0.25	[22]
5 ^{<i>B</i>}	12.3	418, 443, 471	569.4353	551.4228 (source); 569.4313	551 (55), 533 (5), 476 (13), 431 (47), 338 (26)	62	-	7	$C_{40}H_{56}O_2$	all-trans-lutein	730.89 ± 34.55 ^a	450.54 ± 47.48 ^b	452.16 ± 41.11 ^b	[²²]
6 ^D	14.5	420, 447, 475	569.4353	569.4300	551 (20)	30	-	- 9.3	C40H56O2	all- <i>trans</i> - zeaxanthin	9.83 ± 1.09 ^c	58.97 ± 0.42 ^{<i>a</i>}	13.18 ± 0.15^{b}	[²²]
7 ^A	25.9	334 , 417, 445, 474.	537.4455	537.4405	444 (14)	15	60	- 9.3	C40H56	15- <i>cis</i> -β-carotene	< LOQ	< LOQ	< LOQ	[22]

Table 5. Carotenoid content of green basil (*Ocimum basilicum* var. *minimum* cv. 'Greek'). Chromatographic, UV-Vis, and mass spectroscopy characteristics.

Peak	Rt	λmax	Theorical	Experimental	MS/MS	%	%	Error	Molecular	Assignment	GREEN	NBASIL – Concent (µg/g dry basis)	ration	Ref.
nº	(min)	(nm)	(III/2) $[M + H]^+$	(M/2) [M + H] ⁺	(m/z)	III/II	A _B /A _{II}	(A ppm)	formula	identification	Indoor	Greenhouse	Field	
8 ^A	27.6	336 , 417, 443, 470	537.4455	537.4396	444 (8)	23	43	10.9	C40H56	13-cis-β-carotene	109.86 ± 6.13 ^a	53.26 ± 0.55 ^b	42.12 ± 1.00 ^c	[22]
9 C	29.6	418, 444, 472	537.4455	537.4375	481 (5), 444 (5), 413 (12)	67	-	14.9	C40H56	all- <i>trans</i> -α- carotene	24.02 ± 1.99	< LOQ	< LOQ	[22]
10 ^A	34.1	423, 451, 476	537.4455	537.4394	444 (8)	25	-	11.3	C40H56	all- <i>trans</i> -β- carotene	2035.12 ± 68.66 ^a	842.71 ± 31.44 ^b	885.12 ± 72.47 ^b	[22]
11 ^A	36.1	337 , 419, 445, 473	537.4455	537.4394	457 (7), 444 (7), 413 (12)	25	13	11.3	C40H56	9- <i>cis</i> -β-carotene	172.57 ± 9.70 ª	93.88 ± 5.24 ^b	98.02 ± 6.83 ^b	[²²]
Tota (µg/g	l caroten g dry basi	oids is)									3742.89 ± 73.46 ^a	1971.74 ± 85.15 ^b	1689.96 ± 134.2	25 ^c

equivalents (B), α -carotene equivalents (C), and zeaxanthin equivalents (D). Different superscripts in the same line indicate significant difference (p < 0.05). N.D.: not detected. < LOQ: value lower than the limit of quantification. N.C.: not calculated. Ref.: reference.

Peak	Rt	λ _{max}	Theorical	Experimental	MS/MS fragmentation	%	%	Error	Molecular	Assignment	PURPI	LE BASIL – Conce (µg/g dry basis)	ntration	– Ref
nº	(min)	(nm)	$[M + H]^+$	$[M + H]^+$	(m/z)	III/II	Ав/Ап	(Δ ppm)	formula	identification	Indoor	Greenhouse	Field	Kei.
1 <i>A</i>	7.8	413, 438, 467	601.4251	601.4319	583 (33), 565 (6), 509 (10), 491 (13), 367 (7)	83	-	11.2	C40H56O4	all- <i>trans-</i> neoxanthin	50.02 ± 4.04 ^b	119.92 ± 19.58 ^a	136.11 ± 13.13 ^a	[22]
2 ^{<i>A</i>}	8.1	409, 435, 463	583.4146	583.4183	565 (17), 491 (9), 403 (5)	76	-	- 6.4	C40H54O3	all- <i>trans</i> - diadinoxanthin	N. D.	111.93 ± 7.88	N. D.	[⁶⁸]
3	9.1	396, 419, 446, 466	-	585.4291	491 (63)	Mix (N.C.)	-	-	-	Not identified	N. D.	56.83 ± 4.14	N. D.	
4 <i>^A</i>	10.7	414, 439, 466	585.4302	585.4296	564 (100), 567 (23), 549 (6), 491 (12), 493 (6)	33	-	1	$C_{40}H_{56}O_3$	all- <i>trans</i> - antheraxanthin	62.88 ± 0.35 ^a	52.96 ± 0.87 ^b	<loq< td=""><td>[⁶⁶]</td></loq<>	[⁶⁶]
	10.8	330 , 412, 439, 466	601.4251	601.4268	583 (18), 565 (7), 491 (15), 367 (9)	43	38	- 2.8	C40H56O4	cis-violaxanthin				[22]
5 ^{<i>B</i>}	13	417, 443, 471	569.4353	551.4307 (source); 569.4371	551 (57), 476 (16), 431(49), 338 (30)	62	-	- 3.1	$C_{40}H_{56}O_2$	all- <i>trans</i> -lutein	519.34 ± 16.43 ^b	436.15 ± 23.60 °	572.64 ± 25.73 ^{<i>a</i>}	[22]
6	15.2	N. D.	569.4353	569.4342	-	-	-	1.9	C40H56O2	all- <i>trans</i> - zeaxanthin	< LOQ	< LOQ	< LOQ	[22]

Table 6. Carotenoid content of purple basil (*Ocimum basilicum* cv. 'Red Rubin'). Chromatographic, UV-Vis, and mass spectroscopy characteristics.

Peak	Rt	λmax	Theorical	Experimental	MS/MS fragmentation	%	%	Error	Molecular	Assignment	PURP	LE BASIL – Concen (µg/g dry basis)	tration	Dof
nº	(min)	(nm)	$[M + H]^+$	$[M + H]^+$	(m/z)	III/II	A _B /A _{II}	(A ppm)	formula	identification	Indoor	Greenhouse	Field	Kei.
7	23.3	417, 444, 471	-	551.4257	533 (17), 495 (6), 471 (4), 459 (4), 429 (11), 345 (12)	67	-	-	-	Not identified	< LOQ	N. D.	N. D.	
8	26.9	N. D.	537.4455	537.4494	444 (10), 413 (28)	N. D.	N. D.	- 7.2	C40H56	15- <i>cis</i> -β-carotene	< LOQ	< LOQ	< LOQ	[22]
9 ^{<i>A</i>}	28.1	333 , 418, 444, 472	537.4455	537.4473	457 (14), 444 (15), 413 (13)	17	38	- 3.5	C40H56	13-cis-β-carotene	65.44 ± 1.76 ^{<i>a</i>}	59.98 ± 0.02 ^b	51.26 ± 4.06 °	[22]
10 ^{<i>C</i>}	30.5	419, 444, 472	537.4455	537.4468	444 (11), 413 (18)	67	-	- 2.5	C40H56	all-trans-α- carotene	< LOQ	15.27 ± 0.07	<loq< td=""><td>[22]</td></loq<>	[22]
11 ^A	34.6	423, 449, 475	537.4455	537.4478	444 (8) , 413 (12)	25	-	- 4.4	C40H56	all- <i>trans</i> -β- carotene	1109.49 ± 6.92 ^a	1118.49 ± 78.89 ^a	904.80 ± 75.22 ^b	[22]
12 ^A	37	338 , 420, 446, 473	537.4455	537.4486	457 (9), 444 (8), 413 (12)	22	11	- 5.7	C40H56	9- <i>cis</i> -β-carotene	124.02 ± 9.84 ^a	119.27 ± 9.62 ^a	81.53 ± 3.93 ^b	[22]
Total (µg/g	caroteno dry basis	oids s)									1931.17 ± 16.46 ^b	2090.82 ± 52.33 ^a	1746.35 ± 61.41 °	

Results expressed in $\mu g/g$ dry basis. Values are the mean of three replications (± standard error). Superscripts in uppercase: the peaks were quantified as β -carotene equivalents (A), lutein equivalents (B), α -carotene equivalents (C), and zeaxanthin equivalents (D). Different superscripts in the same line indicate significant difference (p < 0.05). N.D.: not detected. < LOQ: value lower than the limit of quantification. N.C.: not calculated. Ref.: reference.

Parsley and green basil plants presented the highest carotenoid content on the indoor system. White LEDs (460 - 560 nm), like those of the Plantario[®]'s chamber, are characterized by a larger portion of blue and green light, a lower proportion of UV, and a smaller red:far-red ratio.⁴³ Such attribute may favor energy absorption by carotenoids. At the same time, these pigments are associated with chlorophyll molecules, and may assist, through energy transfer, in photosynthetic performance. On the contrary, plants cultivated in full sun may undergo photoinhibition since they need a balanced light absorption. This could elicit low levels of photosynthetic pigments, such as carotenoids and total chlorophyll.⁴⁴ Therefore, parsley and green basil plants cultivated on the indoor chamber did most likely benefit from this, as pigments have specific absorption wavelengths (absorption spectrum) with carotenoids and chlorophylls having low light absorption at 530 - 610 nm, and high light absorption at 400-500 nm and 630 - 680 nm.²⁴

On the other hand, the carotenoid content determined in purple basil plants in the indoor system was not the highest among the three systems of cultivation. That behavior may have happened due to the same reasons already explained for chlorophylls.

3.4 Phenolic compounds (non-anthocyanics) and Anthocyanins

The phenolic profile for each of the studied samples from the three species was the same in all cultivation systems (MS and MS/MS spectrum figures are presented in the supporting information). The total and individual phenolic compounds for parsley, green basil, and purple basil are in **Tables 7**, **8**, and **9**, respectively.

Although there was significant difference of total phenolic (TP) values in parsley plants among the three cultivation systems, the concentrations found are within values reported in literature.^{45,12} Besides, it has been proven that different results of concentration of TP are determined when different methods of analysis are used. Luthria et al.⁴⁶, using Folin Ciocalteu assay, found 12.8 mg GAE/g DW; using the sum of peak areas of the HPLC analysis 32.761 mg GAE/g DW.

Parsley proved to be a source of flavonoids: its majority peaks were 15, 19 and 26 (**Table 7**). Peak 15 was identified as apigenin 7-apiosylglucoside (apiin), a compound derivative of kaempferol, and diosmetin 7-apiosylglucoside. Peak 19 was formed by diosmetin-acetyl-apiosylglucoside, apigenin 7-malonyl-apiosylglucoside (malonyl-apiin), and apigenin-acetyl-apiosylglucoside (acetyl-apiin). Peak 26 was formed by derivatives of coumaric acid. Parsley plants cultivated in the indoor system and in the field had a 1.5 times

less content of apiin, kaempferol derivative, and diosmetin-apiosylglucoside (peak 15), when compared to the same plants in the greenhouse system. The content of flavonoids of peak 19 in the greenhouse plants was approximately 1.8 times higher than the values determined in the other two systems of cultivation. Concerning the values of peak 26, there was a significant difference observed between the cultivation systems.

Total phenolic (TP) concentration of green basil plants ranged from 16.64 mg/g DW in the indoor system to 25.50 mg/g DW in the field, being this last value the highest among the three cultivation systems (**Table 8**). The total phenolic concentration of purple basil plants varied from 24.01 mg/g DW in the indoor system to 33 mg/g DW in the field (**Table 9**). McCance et al.⁴⁷ determined the total phenolic content of three purple basil cultivars at different stages of plant development, in the range of 3.30 to 20.08 mg/g DW. The levels of total phenolic determined in a study of fifteen different basil varieties, most of them of the green type, ranged from 3.47 mg GAE/g DW to 17.58 mg GAE/g DW.⁴⁸ In an other assay, in which eight different purple basil varieties were examined, the total phenolic concentration of total phenolic (36.4 mg GAE/g DW) was reported in Sweet basil.⁵⁰

In the present study it was observed that green and purple basil are a rich source of phenolic acids, such as caffeic, chicoric, caftaric, rosmarinic, and ferulic, and also of flavonoids, mostly flavonols and flavones, and some flavanones and flavanonols. For both basil cultivars, rosmarinic acid, a caffeic acid dimer, was the major phenolic compound in all of the evaluated cultivation systems.

For green basil, the preponderant peak of phenolics was number 6 (**Table 8**), which was identified as rosmarinic acid. The content of this acid – quantified in equivalents of caffeic acid (CAE) – in green basil plants in the field cultivation, was of 11.96 mg/g DW, whereas in the greenhouse, it was of 11.45 mg/g DW. Those concentrations are almost twice as higher as the concentration determined in green basil plants from the indoor system: 6.42 mg/g DW.

In purple basil plants, the predominant peaks of phenolics (non-anthocyanics) were peaks 6, 10, and 11 (**Table 9**). Peak 6 consisted of flavonols, such as quercetin and kaempferol derivatives, and flavanones (the eriodictyol derivatives). Peak 10 was formed by derivatives of flavonols and flavanones. Lastly, peak 11 was identified as rosmarinic acid, and in the same peak apigenin-glucuronide was also identified. The highest content of rosmarinic acid (9.25 mg CAE/g DW) was detected in purple basil plants of the field. This value was 1.4

times higher than the amount found in the greenhouse system (6.76 mg CAE/g DW), and 1.65 times higher than the content found in the indoor system (5.61 mg CAE/g DW).

Rosmarinic acid is mentioned in the specialized literature as the predominant phenolic acid in basil plants. In a specific study, the concentration of that phenolic compound in different cultivars of purple basil ranged from 0.66 mg/g DW to 1.72 mg/g DW.⁴⁹ Sweet Dani Lemon and Mrs. Burns Lemon cultivars presented concentrations of 0.06 mg/g DW and 6.09 mg/g DW, respectively.⁴⁸ Lee et al.⁵¹ determined, from leaves of basil purchased in the market, concentrations of rosmarinic acid of 1.12 mg/g DW (Sweet basil) and 1.28 mg/g DW (Thai basil). In dry flakes of basil, the levels of rosmarinic acid have been found in the values of 0.11 to 1.67 mg/g DW.⁵² Although rosmarinic acid was the major compound in several studies, results of Shen et al.⁵³ in Thai holy basil (0.3 mg/g DW) and in Thai sweet basil (0.1 mg/g DW) demonstrated a lower content of rosmarinic acid than the concentration of chicoric acid. The results for rosmarinic acid of the present research were higher when compared to the data referred in the literature, even though they were lower when than the data reported by Javanmardi et al.⁵⁴ These authors evaluated 23 basil accesses from Iran, and the highest level of rosmarinic acid detected was 99.62 mg/g DW. Moreover, in comparison to another study, the concentration of rosmarinic acid in three purple basil cultivars ranged from 1.31 mg/g DW to 21.31 mg/g DW.⁴⁷

Peak	Rt	λmax	Theorical (m/z)	Experimental	MS/MS fragmentation	Error	Molecular	Assignment	Conce	PARSLEY entration (mg/g dry	basis)	Ref.
nº	(min)	(nm)	[M - H] [.]	[M - H] ⁻	(m/z)	(Δ ppm)	formula	tentative identification	Indoor	Greenhouse	Field	
1	16.4	N. D.		445.1349	269 (22), 113 (95)			Not identified	< LOQ	< LOQ	<loq< td=""><td></td></loq<>	
2	17.5	312	417.1038	417.1036	241 (10), 152 (100), 153 (11)	0.6	C17H22O12	Protocatechuic acid derivative	<loq< td=""><td>< LOQ</td><td><loq< td=""><td>[⁶⁹]</td></loq<></td></loq<>	< LOQ	<loq< td=""><td>[⁶⁹]</td></loq<>	[⁶⁹]
3	17.9	280	325.0929	325.0925	119 (100)	1.2	$C_{15}H_{18}O_{8}$	<i>p</i> -coumaric acid hexoside I	< LOQ	< LOQ	< LOQ	[^{70,71}]
4	18.4	282		361.0686	163 (100), 119 (96)			coumaric acid derivative	< LOQ	< LOQ	<loq< td=""><td></td></loq<>	
5	19.4	285, 349		595.1674	475 (21), 415 (38), 385 (83), 355 (91)			Not identified	< LOQ	< LOQ	<loq< td=""><td></td></loq<>	
6	19.7	N. D.		437.1255	401 (40), 269 (79), 161 (75), 113 (94)			Not identified				
	19.7	N. D.		447.1531	401 (38), 313 (8), 205 (100), 161 (50)			Not identified	< LOQ	< LOQ	< LOQ	
7	20.2	N. D.		553.2054	517 (100), 205 (23), 149 (21)			Not identified				
	20.2	N. D.		563.2347	517 (100), 293 (20), 191 (29), 149 (48)			Not identified	< LOQ	< LOQ	< LOQ	

Table 7. Phenolic compounds content of parsley	(<i>Petroselinum crispum</i> cv.	'Flat Leaf').	Chromatographic, UV-Vis, and mass spectroscopy
	characteristics	s.	

Peak	Rt	λ _{max}	Theorical	Experimental	MS/MS fragmentation	Error	Molecular	Assignment	Concen	PARSLEY tration (mg/g dr	y basis)	Ref.
nº	(min)	(nm)	[M-H] ⁻	(M/Z) [M - H] ⁻	(m/z)	(A ppm)	formula	tentative identification	Indoor	Greenhouse	Field	
8	20.5	N. D.		431.1932	153 (100)			Gentisic acid derivative or Protocatechuic acid derivative	< LOQ	< LOQ	< LOQ	
	20.6	N. D.		565.2498	519 (92), 293 (14), 207 (14), 161 (20), 149 (13), 113 (10)			Not identified				
9	20.9	346	609.1561	609.1431	447 (85), 285 (63)	4.9	C27H30O16	Kaempferol 3,7- <i>O</i> - β-D- diglucopiranoside	< LOQ	< LOQ	< LOQ	[⁷¹]
10	21.4	254, 351	593.1512	593.1520	503 (18), 473 (57), 383 (24), 353 (37)	-1.4	C27H30O15	Apigenin 6,8-di-C- glucoside (Vicenin 2)	<100	<1.00	<1.00	[⁷²]
	21.4	254, 351	639.1567	639.1548	519 (3), 477 (100), 357 (6), 315 (76)	3	C28H32O17	Isorhamnetin-3,7- <i>O</i> - β- diglucopiranoside	< LOQ	< LOQ	< LOQ	[¹²]
11	22.8	253, 266, 353	725.1571	725.1565	681 (33), 561 (8), 519 (100), 476 (37), 357 (10), 315 (44)	0.7	$C_{31}H_{34}O_{20}$	Isorhamnetin 3- malonylglucoside- 7- glucoside	< LOQ	< LOQ	< LOQ	[¹²]
12 ^A	23.5	278	325.0929	325.0928	119 (100)	0.1	C15H18O8	<i>p</i> -coumaric acid hexoside II	1.82 ± 0.04 ^{<i>a</i>}	1.05 ± 0.04 ^b	1.65 ± 0.14 ^{<i>a</i>}	[⁷⁰]
	23.7	278, 344		367.1035	119 (100)			Not identified				

Peak	Rt	λmax	Theorical (m/z)	Experimental (m/z)	MS/MS fragmentation	Error	Molecular	Assignment	Concen	PARSLEY tration (mg/g dr	y basis)	Ref.
nº	(min)	(nm)	[M-H] ⁻	[M - H] ⁻	(m / z)	(Δ ppm)	formula	tentative identification	Indoor	Greenhouse	Field	
13	27.7	271, 349		367.1026	119 (98)			Not identified	< LOQ	< LOQ	< LOQ	
14	27.9	322		539.2263	503 (100), 371 (38), 161 (12)			Not identified				
	27.9	322		549.2562	503 (100),371 (58), 233 (6), 161(13)			Not identified	< LOQ	< LOQ	< LOQ	
15 ^B	29.3	267, 336	563.1406	563.1404	269 (100)	0.4	C26H28O14	Apigenin 7- apiosylglucoside (apiin)				[^{12,46}]
	29.8	266, 340	665.1359	665.1361	621 (100), 489 (4), 285 (7)	- 0.2	C29H30O18	Kaempferol-3- <i>O</i> -[6´´- malonyl-β-D- apiofuranosyl-(1→2)-β- D-glucopiranoside]	1.58 ± 0.06 ^b	2.43 ± 0.28 ^{<i>a</i>}	1.67 ± 0.03^b	[⁷¹]
	30	253, 266, 343	593.1512	593.1513	563 (9), 299 (100)	- 0.2	C27H30O15	Diosmetin 7- apiosylglucoside I				[^{12,46}]
16	30.4	267, 338	431.0984	431.0988	268 (100), 269 (34)	- 1	$C_{21}H_{20}O_{10}$	Apigenin 7-glucoside				[¹²]
	30.7	253, 269, 343	593.1512	593.1513	299 (100)	- 0.4	C ₂₇ H ₃₀ O ₁₅	Diosmetin 7- apiosylglucoside II	< LOQ	< LOQ	< LOQ	[^{12,46}]

Peak	Rt	λmax	Theorical	Experimental	MS/MS fragmentation	Error	Molecular	Assignment	Concer	PARSLEY ntration (mg/g d	ry basis)	Ref.
nº	(min)	(nm)	[M-H] ⁻	[M - H] ⁻	(m/z)	(A ppm)	formula	tentative identification	Indoor	Greenhouse	Field	
17	30.9	266, 338	605.1512	605.1498	563 (88), 545 (33), 413 (4), 269 (100)	2.2	C ₂₈ H ₃₀ O ₁₅	Apigenin-acetyl- apiosylglucoside (acetyl-apiin) I				[^{40,73}]
	30.9	266, 338	649.1410	649.1405	605 (16), 563 (16), 545 (100), 269 (39)	0.8	C29H30O17	Apigenin 7-malonyl- apiosylglucoside I	< LOQ	< LOQ	< LOQ	[⁴⁶]
	31.1	267, 343	461.1089	461.1091	446 (100), 299 (22), 298 (42), 283 (60)	-0.3	C22H22O11	Chrysoeriol 7-O- glucoside				[⁷⁴]
18	31.6	267, 343	605.1512	605.1513	563 (72), 455 (31), 269 (94)	0.2	C ₂₈ H ₃₀ O ₁₅	Apigenin-acetyl- apiosylglucoside (acetyl-apiin) II	< LOQ	< LOQ	< LOQ	[^{46,73}]
19 ^{<i>B</i>}	32.1	267, 343	635.1618	635.1633	593 (61), 575 (29), 443 (4), 299 (100)	- 2.4	C29H32O16	Diosmetin-acetyl- apiosylglucoside I				[⁷⁵]
	32.2	267, 339	649.1410	649.1405	605 (90), 563 (8), 473 (3), 269 (100)	0.8	C29H30O17	Apigenin 7-malonyl- apiosylglucoside II	1.72 ± 0,03 ^b	3.04 ± 0.08 ^{<i>a</i>}	1.72 ± 0.02 ^b	[^{46,73}]
	32.6	267, 337	605.1512	605.1511	563 (6), 455 (2), 269 (100)	0.2	$C_{28}H_{30}O_{15}$	Apigenin-acetyl- apiosylglucoside (acetyl-apiin) III				[⁷⁵]

Peak	Rt	λmax	Theorical	Experimental	MS/MS fragmentation	Error	Molecular	Assignment	Conce	PARSLEY entration (mg/g dry	v basis)	Ref.
nº	(min)	(nm)	(M/Z) [M-H] ⁻	(M/Z) [M - H] ⁻	(m/z)	(Δ ppm)	formula	tentative identification	Indoor	Greenhouse	Field	
20	32.8	252, 345	635.1618	635.1605	593 (5), 299 (100), 163 (3)	2	C29H32O16	Diosmetin-acetyl- apiosylglucoside II				[⁷⁵]
	32.8	252, 266, 345	679.1516	679.1530	635 (79), 593 (9), 299 (100)	- 2	C ₃₀ H ₃₂ O ₁₈	Diosmetin malonyl- apiosylglucoside I	< LOQ	<loq< td=""><td>< LOQ</td><td>[⁴⁶]</td></loq<>	< LOQ	[⁴⁶]
	32.8	252, 345		777.1219	635 (34), 299 (9)			Not identified				
21	33.3	252, 266, 344	679.1516	679,1522	635 (14), 593 (4), 299 (100)	- 0.9	C ₃₀ H ₃₂ O ₁₈	Diosmetin malonyl- apiosylglucoside II	< LOQ	<loq< td=""><td>< LOQ</td><td>[⁴⁶]</td></loq<>	< LOQ	[⁴⁶]
22	33.9	268, 341		563.2691	269 (26), 191 (49), 161 (15), 149 (100)			Not identified	< LOQ	<loq< td=""><td>< LOQ</td><td></td></loq<>	< LOQ	
23	35.9	315		471.1296	307 (3), 163 (100), 145 (23), 119 (30)			Not identified	< LOQ	< LOQ	< LOQ	
24	36.9			349.0909	201 (100)			Not identified	< LOQ	< LOQ	< LOQ	

Peak	Rt	λmax	Theorical	Experimental	MS/MS fragmentation	Error	Molecular	Assignment	Concer	PARSLEY tration (mg/g dry	v basis)	Ref.
nº	(min)	(nm)	(M/Z) [M-H] ⁻	(M/Z) [M - H] ⁻	(m/z)	(Δ ppm)	formula	tentative identification	Indoor	Greenhouse	Field	
25 ^A	37.5	311		513.1419	163 (100), 145 (15), 119 (22)			coumaric acid derivative				
	37.5	311		557.1302	349 (3), 307 (2), 163 (100), 145 (21), 119 (22)			coumaric acid derivative	< LOQ	< LOQ	< LOQ	
	37.8	284		471.1272	163 (100), 145 (27), 119 (34)			coumaric acid derivative				
26 ^A	38.5	282		513.1375	163 (100), 145 (44), 119 (45)			coumaric acid derivative	5.76 . 0.00 4	5.20 ± 0.11 h	5 60 + 0 14 4	
	38.5	282		557.1311	349 (5), 163 (100), 145 (37), 119 (20)			coumaric acid derivative	5.76 ± 0,09 "	$5.39 \pm 0.11^{\circ}$	5.69 ± 0.14 "	
Total p	henolics								10.88 ± 0.14 ^b	11.92 ± 0.09 ^a	10.73 ± 0.30 ^b	

Results expressed in mg/g dry basis. Values are the mean of three replications (\pm standard error). Results expressed in dry basis. Superscripts in uppercase: the peaks were quantified as gallic acid equivalents (A), and caffeic acid equivalents (B).Different superscripts in the same line indicate significant difference (p < 0.05). N.D.: not detected. < LOQ: value lower than the limit of quantification. Ref.: reference.

Peak	Rr	λmáv	Theorical	Experimental	MS/MS fragmentation	Error	Molecular	Assignment	Concen	GREEN BASIL tration (mg/g di	y basis)	
nº	(min)	(nm)	(<i>m/z</i>) [M - H] ⁻	(<i>m/z</i>) [M - H] ⁻	(<i>m</i> /z)	(Δ ppm)	formula	tentaive identification	Indoor	Greenhouse	Field	Ref.
1 ^B	24.7	292, 322	179.0350	179.0325	135 (100)	13.8	C9H8O4	Caffeic acid	0.13 ± 0.00 °	0.26 ± 0.01 ^b	0.35 ± 0.00 ^a	[^{51,76,77}]
2	27.8	N. D.	447.0933	447.0900	285 (98)	7.4	C21H20O11	Kaempferol-3-O-hexoside	< LOQ	< LOQ	< LOQ	[^{69,78}]
3 ^{<i>A</i>}	30.2	273, 325	463.0882	463.0858	300 (100), 178 (11)	5.2	C21H20O12	Quercetin- 3-O-hexoside				[^{69,78,79}]
	30.4	274, 323	593.1512	593.1451	285 (100), 150 (27)	10.3	C ₂₇ H ₃₀ O ₁₅	Kaempferol-3-O-rutinoside	2.90 ± 0.19 ^{<i>a</i>, <i>b</i>}	2.55 ± 0.23 ^b	$2.99 \pm 0.07 \ ^{a}$	[^{69,78}]
	30.9	268, 328	431.0984	431.0939	269 (100)	10.3	C21H20O10	Apigenin-7-O-glucoside				[⁷⁷]
4	31.9	275, 325	505.0988	505.0966	300 (100), 197 (19)	4.4	C ₂₃ H ₂₂ O ₁₃	Quercetin-O-acetylhexoside				[⁸⁰]
	31.9	270, 330	549.0886	549.0856	505 (8), 429 (15), 387 (6), 300 (100), 151 (8)	5.4	C24H22O15	Quercetin 3-O-malonylglucoside	< LOQ	<loq< td=""><td>< LOQ</td><td>[^{81,82}]</td></loq<>	< LOQ	[^{81,82}]
5 ^B	32.5	281, 327	473.0725	473.0687	179 (67), 149 (100), 135 (9)	4.8	C22H18O12	Chicoric acid				[^{51,69,83}]
	32.6	283, 328	311.0409	311.0390	149 (100), 135 (100)	6	C13H12O9	Caffeoyl tartaric acid (Caftaric acid)	3.29 ± 0.21 °	5.80 ± 0.13 ^{<i>a</i>}	5.21 ± 0.03 ^b	[⁸³]

Table 8. Phenolic compounds content of green basil (*Ocimum basilicum* var. *minimum* cv. 'Greek'). Chromatographic, UV-Vis, and mass spectroscopy characteristics.

Peak	Rt	λ _{máx}	Theorical	Experimental	MS/MS fragmentation	Error	Molecular	Assignment	Concer	GREEN BASII ntration (mg/g d	ry basis)	Dof
nº	(min)	(nm)	(M/2) [M - H] ⁻	(M/2) [M - H] ⁻	(m/z)	(Δ ppm)	formula	identification	Indoor	Greenhouse	Field	KU.
6 ^{<i>B</i>}	35	288, 329	359.0772	359.0757	179 (28), 161 (100), 135 (23)	4.4	$C_{18}H_{16}O_8$	Rosmarinic acid	6.42 ± 0.49 ^b	11.45 ± 0.12 ^a	11.96 ± 0,56 ^a	[9]
7	36.2	277, 326	193.0506	193.0504	161 (8) , 133 (100)	1	$C_{10}H_{10}O_4$	Ferulic acid	< LOQ	< LOQ	< LOQ	[^{76,84}]
8 ^A	36.6	276, 325	163.0765	163.0752	148 (70), 121 (100)	7.8	$C_{10}H_{12}O_2$	Eugenol				[⁷⁶]
	36.7	277, 326	357.0616	357.057	179 (25), 161 (100), 135 (25), 123 (83)	12.8	$C_{18}H_{14}O_{8}$	Santaflavone	0.29 ± 0.02 ^a	0.21 ± 0.00 ^b	0.28 ± 0,00 ^a	[⁸⁰]
	37.3	276, 327	487.0882	487.0889	219 (43), 193 (100), 179 (85), 161 (30), 149 (26), 135 (63)	- 1.5	C23H20O12	Caffeoyl feruloyl tartaric acid I				[⁸⁵]
9 ^{<i>B</i>}	37.7	295, 328	325.0565	325.0532	193 (33), 178 (14), 134 (100)	10.1	$C_{14}H_{14}O_{9}$	Fertaric acid	0.28 + 0.00 c	0.40×0.01 k	0.52 + 0.01 a	[⁸⁶]
	37.9	295, 328	487.0882	487.0858	-	5	C23H20O12	Caffeoyl feruloyl tartaric acid II	0.38 ± 0.00^{-5}	0.40 ± 0.01 *	0.32 ± 0,01 "	[⁸⁵]
10	39.1	277, 320		343.0800	197 (57), 181 (57), 161 (100), 145 (70), 135 (91)			Not identified	< LOQ	<loq< td=""><td>< LOQ</td><td></td></loq<>	< LOQ	
11	39.7	283, 325		373.0903	239 (7), 197 (25), 179 (57), 160 (39), 135 (100)			Not identified	< LOQ	< LOQ	< LOQ	
12	41.7	288, 328	285.0405	285.0379	175 (35), 150 (33), 133 (100)	8.9	$C_{15}H_{10}O_{6}$	Luteolin	< LOQ	< LOQ	< LOQ	[^{76,87}]
13	43.9	281, 321		387.0699	311 (28), 207 (18), 179 (90), 135 (100)			Not identified	< LOQ	<loq< td=""><td>< LOQ</td><td></td></loq<>	< LOQ	

Peak R _t n ^o (min)	Rt	λmáx	Theorical	Experimental	MS/MS fragmentation	Error	Molecular	Assignment	Concent	GREEN BASIL tration (mg/g dr	y basis)	Dof
nº	(min)	(nm)	(<i>m/z</i>) [M - H] ⁻	(<i>m/z</i>) [M - H] ⁻	(m/z)	(Δ ppm)	formula	identification	Indoor	Greenhouse	Field	Kel.
14	46.3	302, 334		313.0690	161 (100), 151 (10), 133 (34), 123 (11)			Not identified	< LOQ	< LOQ	< LOQ	
	46.4	302, 333	269.0455	269.0448	159 (29), 150 (66), 130 (57), 117 (100)	2.9	C15H10O5	Apigenin				[^{76,77}]
15 ^A	47.8	281		325.1815	216 (4), 183 (91)			Not identified	3.21 ± 0.09 ^b	1.78 ± 0.04 ^c	4.18 ± 0.05 ^{<i>a</i>}	

Total phenolics

 16.64 ± 0.69 ^c 22.45 ± 0.17 ^b 25.50 ± 0.70 ^a

Results expressed in mg/g dry basis. Values are the mean of three replications (\pm standard error). Results expressed in dry basis. sh: shoulder. Superscripts in uppercase: the peaks were quantified as gallic acid equivalents (A), and caffeic acid equivalents (B).Different superscripts in the same line indicate significant difference (p < 0.05). N.D.: not detected. < LOQ: value lower than the limit of quantification. Ref.: reference.

Peak	Rt	λ _{max}	Theorical (m/z)	Experimental (m/z)	MS/MS fragmentation	Error	Molecular	Assignment tentative	Concen	PURPLE BASI tration (mg/g d	L lry basis)	
nº	(min)	(nm)	[M- H] ⁻	[M - H] ⁻	(m/z)	(A ppm)	formula	identification	Indoor	Greenhouse	Field	Ref.
1 ^A	22.6	282	563.0772	563.0719	303 (54), 285 (100), 275 (44)	9.5	$C_{35}H_{16}O_8$	Kaempferol- <i>O</i> -rhamnosyl- <i>O</i> - pentoside I	0.23 ± 0.01 ^a	0.19 ± 0.01 ^b	0.19 ± 0.01 ^b	[⁸⁸³]
2 ^{<i>A</i>}	22.9	N. D.		343.1479	179 (100), 121 (72)			Not identified	1.30 ± 0.08^{a}	$1.33 \pm 0.04^{\ a}$	1.23 ± 0.02^{a}	
3 ^{<i>B</i>}	24.7	290, 322	179.0350	179.0324	135 (100)	14.5	C9H8O4	Caffeic acid	0.43 ± 0.02 ^a	$0.34\pm0.01~^b$	0.44 ± 0.01 ^{<i>a</i>}	[^{51,76,77}]
4 ^{<i>A</i>}	26.1	288		465.0987	285 (82), 179 (15), 151 (100)			Kaempferol derivative				
	26.1	288	563.0772	563.0750	465 (50), 313(13), 285(65), 179 (20), 151 (100)	4	C35H16O8	Kaempferol-O-rhamnosyl-O- pentoside II	0.29 ± 0.00 ^b	0.60 ± 0.02 ^{<i>a</i>}	0.63 ± 0.04 ^{<i>a</i>}	[⁸⁸]
	26.3	283	449.1031	449.1046	287 (24), 151 (100)	9.6	C21H22O11	Eriodictyol hexoside or Dihydrokaempferol hexoside I				[^{9,87}]
5 ^A	28.1	288	609.1461	609.1417	487 (25), 445 (79), 301 (72), 300 (100)	7.3	C27H30O16	Quercetin 3- <i>O</i> -rutinoside (Rutin)	0.25 + 0.02 ($0.71 \pm 0.01 k$	$1.10 \pm 0.07 a$	[^{76,77}]
	28.7	280, 325	697.1622	697.1554	449 (30), 287 (100)	9.7	C30H34O19	Kaempferol-3- <i>O</i> -glucosyl-7- <i>O</i> - (6 "-malonyl)-glucoside	$0.55 \pm 0.05^{\circ}$	0.71 ± 0.01	1.10 ± 0.07 *	[⁸²]
6 ^{<i>A</i>}	30	274, 320	463.0882	463.0867	301 (61), 300 (100)	3.3	$C_{21}H_{20}O_{12}$	Quercetin-3-O-hexoside I				[^{69,79,81}]
	30.2	284, 329	449.1089	449.1050	287 (67), 175 (8), 151 (100)	12.5	C21H22O11	Eriodictyol hexoside or Dihydrokaempferol hexoside II	7.13 ± 0.88 ^b	9.01 ± 0.07 ^{<i>a</i>}	7.75 ± 0.40 ^b	[^{9,87}]
	30.5	283, 330 (sh)	287,0561	287.0523	151 (22), 135 (100)	13.3	C15H12O6	Eriodictyol or 2- Hydroxynaringenin or Dihydrokaempferol				[^{89,90}]

Table 9. Phenolic compounds content of purple basil (*Ocimum basilicum* cv. 'Red Rubin'). Chromatographic, UV-Vis, and mass spectroscopy characteristics.

Peak	Rt	λmax	Theorical (m/z)	Experimental	MS/MS fragmentation	Error	Molecular	Assignment tentative	F Concen	PURPLE BASIL tration (mg/g d	ry basis)	
nº	(min)	(nm)	[M-H] ⁻	[M - H] ⁻	(m/z)	(Δ ppm)	formula	identification	Indoor	Greenhouse	Field	Ref.
7	31	284, 325	447.0933	447.0856	285 (100), 151 (90)	17.2	C21H20O11	Kaempferol-3-O-hexoside I				[⁶⁹]
	31.2	284, 325	463.0882	463.0837	287 (83), 151 (100)	9.6	C21H20O12	Eriodictyol glucuronide	< LOQ	< LOQ	< LOQ	[9]
	31.5	275, 330	461.0725	461.0669	285 (100)	12.2	C21H18O12	Kaempferol glucuronide or Luteolin glucuronide				[^{69,77,91}]
8	31.6	287, 330	505.0988	505.0994	301 (60), 300 (100)	0.5	C23H22O13	Quercetin-O-acetylhexoside I				[⁸⁰]
	31.6	287, 330	549.0886	549.0818	301 (60), 300 (100)	12.5	C24H22O15	Quercetin malonyl-hexoside	< LOQ	< LOQ	< LOQ	[⁸⁰]
	31.8	287, 330	519.1872	519.1801	357 (83), 311 (6), 151 (100)	13.6	C ₂₆ H ₃₂ O ₁₁	Pinoresinol-4-O-hexoside				[⁹²]
9 ^{<i>B</i>}	32.5	280, 320	447.0933	447.0892	285 (41), 284 (100)	- 4	$C_{21}H_{20}O_{11}$	Kaempferol-3-O-hexoside II				[⁶⁹]
	32.6	279, 320 (sh)	473.0725	473.0685	179 (95), 149 (100), 135 (23)	8.6	$C_{22}H_{18}O_{12}$	Chicoric acid	exoside II id 3.66 ± 0.11 ^c $5.13 \pm$ c acid d)	5 12 . 0 05 a	4.45 ± 0.00 h	[^{9,83, 93}]
	32.9	298, 320 (sh)	311.0409	311.0357	179 (31), 135 (100)	16.6	$C_{13}H_{12}O_9$	Caffeoyl tartaric acid (Caftaric acid)		5.13 ± 0.05 "	4.45 ± 0.06 ^b	[⁸³]
	33.1	290 320 (sh)	303.0510	303.0464	179 (22), 151 (42), 125 (100)	15.3	$C_{15}H_{12}O_7$	Taxifolin				[9,94]

Peak	Rt	λmax	Theorical	Experimental	MS/MS fragmentation	Error	Molecular	Assignment	P Concen	URPLE BASIL tration (mg/g dr	– y basis)	Ref.
nº	(min)	(nm)	(M/Z) [M-H] ⁻	(M/Z) [M - H] ⁻	(m/z)	(Δ ppm)	formula	identification	Indoor	Greenhouse	Field	
10 ^A	33.4	285, 322 (sh)	505.0988	505.0957	301 (45), 300 (100)	6.1	C ₂₃ H ₂₂ O ₁₃	Quercetin-O-acetylhexoside II				[⁸⁰]
	34	283, 330 (sh)	535.1093	535.1070	491 (1), 287 (100), 151 (86)	4.4	$C_{24}H_{24}O_{14}$	Eriodictyol-O- malonylhexoside I	3.20 ± 0.10^{b}	2.20 ± 0.00 k	4.46 ± 0.00 g	[9]
	34.1	283, 330 (sh)	271.0612	271.0568	177 (30), 151 (42), 119 (100)	16.3	$C_{15}H_{12}O_5$	Naringenin I	5.20 ± 0.10^{-5}	3.39 ± 0.09	4.40 ± 0.09	[⁸⁰]
	34.3	283, 326 (sh)	549.1978	549.1919	387 (100), 161 (94)	10.7	C27H34O12	Hydroxyarctigenin-O- hexoside				[⁸⁰]
11 ^B	34.5	288, 328	359.0772	359.0733	197 (24), 179 (30), 161(100), 135 (30)	11	C18H16O8	Rosmarinic acid	5 61 + 0 27 ^c	6.76 ± 0.12^{b}	9.25 ± 0.16^{a}	[9]
	34.5	288, 328	445.0776	445.0749	269 (100)	6.3	C21H18O11	Apigenin-glucuronide	5.01 ± 0.27	0.70 ± 0.12	7.25 ± 0.10	[^{76,80}]
12	36.1	287, 324	193.0506	193.0504	161 (12), 133 (100)	1.3	$C_{10}H_{10}O_4$	Ferulic acid	(100	<1.00	4.00	[^{76,84}]
	36.2	286, 320	535.1093	535.1048	491 (8), 287 (100), 151 (70)	8.4	C24H24O14	Eriodictyol-O- malonylhexoside II	< LOQ	< LOQ	< LOQ	[9]
13 ^{<i>B</i>}	36.6	280, 323 (sh)	163.0765	163.0732	148 (100), 139 (59), 121 (83)	9.9	C10H12O2	Eugenol				[⁷⁶]
	36.8	280, 325 (sh)	357.0616	357.0561	161 (45), 135 (89), 123 (100)	15.5	$C_{18}H_{14}O_8$	Santaflavone I		0.00 · 0.00 h	0.16 - 0.00 4	[⁸⁶]
	37	279, 324	519.1144	519.1091	271 (100), 151 (9)	10.1	C ₂₄ H ₂₄ O ₁₃	Naringenin-O- malonylhexoside	< LOQ	0.09 ± 0.00^{b}	$0.16 \pm 0.00^{\ a}$	[9]
	37.2	279, 325	271.0562	271.0573	151 (30), 119 (91)	14.5	$C_{15}H_{12}O_5$	Naringenin II				[⁸⁰]

Peak	Rt	λmax	Theorical (m/z)	Experimental	MS/MS fragmentation	Error	Molecular	Assignment	I Concer	PURPLE BASIL atration (mg/g dr	- y basis)	
nº	(min)	(nm)	[M-H] ⁻	[M - H] [.]	(m/z)	(Δ ppm)	formula	identification	Indoor	Greenhouse	Field	Ref.
14 ^A	37.4	282, 330 (sh)		639.0699	475 (21), 303 (23), 271 (100), 161 (13)			Naringenin derivative				
	37.5	282, 330 (sh)		541.091	415 (11) , 293 (100)			Not identified				
	37.5	282, 330 (sh)		641.1455	475 (11), 271 (100), 151 (11)			Naringenin derivative	0.63 ± 0.02 ^c	0.84 ± 0.03 ^b	1.15 ± 0.03 ^{<i>a</i>}	
	37.5	282, 330 (sh)		879.1963	475 (10), 359 (18); 271 (100), 161 (26)			Naringenin derivative				
	37.6	280, 321		711.3908	679 (20), 503 (100)			Not identified				
15 ^A	38.2	288, 325		357.1849	161 (100), 135 (59)			Not identified	0 17 + 0 01	<100	<100	
	38.7	287, 327		343.0772	197 (25), 179 (43), 145 (80), 135 (100)			Not identified	0.17 _ 0.01			
16 ^A	39.4	280, 322	373.0929	373.0880	179 (36), 160 (41), 135 (100)	13.1	$C_{19}H_{18}O_8$	Methyl rosmarinate	0.35 ± 0.02 ^b	0.47 ± 0.02 ^{<i>a</i>}	0.51 ± 0.04 ^{<i>a</i>}	[⁸⁹]
17	40.2	286, 320		595.1696	453 (31) , 249 (100)			Not identified	< LOQ	< LOQ	< LOQ	
18	41.5	285, 321	285.0405	285.0359	151 (42), 135 (100), 107	16.1	$C_{15}H_{10}O_{6}$	Kaempferol				[⁷¹⁶]
	41.7	287, 326	287.0561	287.0536	199 (11), 151 (25), 135 (100), 107 (19)	8.8	C15H12O6	Eriodictyol or 2- Hydroxynaringenin or Dihydrokaempferol II	< LOQ	< LOQ	< LOQ	[^{89,90}]
	41.9	287, 325	357.0616	357.0583	179 (63), 161 (73), 151 75), 135 (100)	9.2	$C_{18}H_{14}O_8$	Santaflavone II				[⁸⁰]

Peak	Rt	λmax	Theorical (m/z)	Experimental (m/z)	MS/MS fragmentation	Error	Molecular	Assignment tentative	I Concer	PURPLE BASIL ntration (mg/g dr	– y basis)	^
n°	(min)	(nm)	[M- H] ⁻	[M - H] [.]	(m/z)	(Δ ppm)	formula	identification	Indoor	Greenhouse	Field	Ref.
19	43.8	286, 323		387.0682	311 (16), 179 (52), 135 (100)	10.3	$C_{19}H_{16}O_{9}$	Not identified	< LOQ	< LOQ	< LOQ	
20	45.2	286, 327		313.0685	216 (13), 183 (18), 161 (100), 133 (61)			Not identified	< LOQ	< LOQ	< LOQ	
21	45.8	295, 333		313.0679	161,0214 (100), 133 (59)			Not identified	< LOQ	< LOQ	< LOQ	
22 ^A	47.1	283, 325	271.0612	271.0578	161 (20), 151 (44), 119 (100)	12.7	C15H12O5	Naringenin III	0.81 ± 0.00 ^c	0.96 ± 0.01 ^b	1.68 ± 0.02 ^{<i>a</i>}	[80]

Total phenolics

 $24.01 \pm 0.71 \ ^{c} \qquad 29.82 \pm 0.36 \ ^{b} \qquad 33.00 \pm 0.89 \ ^{a}$

Results expressed in mg/g dry basis. Values are the mean of three replications (\pm standard error). Results expressed in dry basis. sh: shoulder. Superscripts in uppercase: the peaks were quantified as gallic acid equivalents (A), and caffeic acid equivalents (B). Different superscripts in the same line indicate significant difference (p < 0.05). N.D.: not detected. < LOQ: value lower than the limit of quantification. Ref.: reference.

The concentrations of total and individual anthocyanins of the purple basil plants in all cultivation systems, are in **Table 10**. Related to these plants, the concentration of total anthocyanins (TA) was 18.80 mg/g DW in the greenhouse, 21.66 mg/g DW in the indoor, and the highest concentration (25.33 mg/g DW) was determined in plants from the field (**Table 10**). McCance et al.⁴⁷ indicated concentrations of total anthocyanins in different purple basil cultivars varying from 2.07 mg/g DW to 9.72 mg/g DW for Sweet Petra Dark and Purple Ruffles, respectively. In other studies, varying TA concentrations were determined. In Cinnamon and Petra Dark Red basil, concentrations of 0.48 and 8.74 mg/g DW, respectively, were found.⁴⁸ In a research with different purple basil varieties, Flanigan and Niemeyer determined TA concentration in the range of 7.55 mg/g DW to 16.6 mg/g DW.⁴⁹ Lower values of TA were reported by Phippen & Simon⁵⁵ among diverse purple basil varieties (including Red rubin): from 0.07 to 0.19 mg/g of fresh weight, when the extraction used all parts of the plants. The findings of TA concentration in the present work were higher than the values reported in the literature.

Our results showed that most observed anthocyanins are derived from the aglycone cyanidin, some of which are acylated, mainly with *p*-coumaric, caffeic, and malonic acid, and glycosylated. Moreover, other anthocyanins with different aglycones, such as delphinidin, peonidin, pelargonidin, and malvidin were exposed. The most significant concentration of individual anthocyanins was determined in peak 6 in the field cultivation: 4.22 mg/g DW, quantified as equivalents of cyanidin 3-glicoside. In this peak, three anthocyanins were identified: cyanidin-3-(caffeoyl) diglucoside-5-glucoside, cyanidin 3-(*p*-coumaroyl 6′caffeoyl) sophoroside, and cyanidin 3-hexoside.

It is known that plants, in general, synthesize an ample assortment of substances that seem to have no direct relation to their growth and development. These substances are known as secondary metabolites (terpenes, phenolic compounds, and nitrogenous compounds). Phenolic compounds have various functions in plants, and in the case of flavonoids, they act as protection against UV radiation and as seed dispersers. Flavonoids also work as attractants to pollinators and as well as a defense system against herbivores and pathogens.⁵⁶

Biosynthesis of phytochemicals in plants dependens on the species⁵⁷, and some species naturally produce high levels of specific compounds such as rosmarinic acid, the main phenolic compound of basil. According to Dou et al.⁵⁸, phytochemical biosynthesis is strongly influenced by environmental conditions, and light is one of the

most important factors; more specifically, light intensity, photoperiod, and the quality of light, *i.e.*, the light spectrum.

Some other studies have shown that blue, red or UV light might result in an increased concentration of phenolic compounds in herbs, such as flavonoids and anthocyanins. Furthermore, the increased activities of major metabolic enzymes may also cause a rise in these compounds in herbs, promoting an improvement on the pigment synthesis.⁵⁹ For instance, it has already been observed that, under blue light, the expression of chalcone synthase (CHS), phenylalanine ammonia lyase (PAL), and dihydroflavonol 4-reductase (DFR), key enzymes in anthocyanin synthesis, enhance the accumulation of these pigments in lettuce *Gerbera hybrida* and *Salvia miltiorrhiza*.^{59,60}

Increased exposure of plants to UV-B light results in elevated flavones and flavonols synthesis. These two classes of flavonoids accumulate in the epidermal layers of leaves and stems, aiding in the protection of cells against the excess of UV-B radiation, by intensily absorbing the light in the UV-B region (280 - 320 nm), at the same time as the visible light lengths pass by these epidermal cell layers in a continuous way.⁵⁶ Furthermore, the synthesis of anthocyanins, which absorb between 500 and 600 nm, has been related to the tolerance of different environmental stresses, such as resistance to desiccation, freezing and cooling effects, heavy metal contamination, as well as injuries. Anthocyanins are associated with protective role against UV-B radiation, particularly when acylated by absorbing in the region of the UV spectrum. Unlike colorless flavonoids, anthocyanins in leaves may not be primarily involved in UV protection, because they are usually located in the internal mesophilic tissues rather than in the epidermis, the critical site for UV interception.⁶¹

For all these phenomena described above, the UV-B radiation may have influenced the high content of phenolic compounds and anthocyanins in green and purple basil plants cultivated in the field. In this case, the plants were exposed to a broad spectrum of sunlight.

Peak	Rt	λ_{max}	Theorical	Experimental	MS/MS fragmentation	Error	Molecular	Assignment	PURPL Conce	E BASIL – Anthe ntration mg/g dr	ocyanins v basis	
nº	(min)	(nm)	(III/Z) [M]+	(III/Z) [M] ⁺	(m/z)	(Δ ppm)	Formula	Tentative identification	Indoor	Greenhouse	Field	Ref.
1^A	10	283, 520	611.1607	611.1571	449 (4) , 287 (96)	5.9	C27H31O16	Cyanidin 3,5-diglucoside	1.98 ± 0.09 ^b	1.69 ± 0.07 ^c	2.12 ± 0.04^{a}	[⁵⁵]
2 ^{<i>A</i>}	11.1	281, 518	697.1611	697.1573	535 (1), 449 (2), 287 (100)	5.4	C ₃₀ H ₃₃ O ₁₉	Cyanidin 3-(malonyl)- glucoside-5-glucoside	0.39 ± 0.02^{c}	0.80 ± 0.01 ^b	1.86 ± 0.05 ^{<i>a</i>}	[⁹⁵]
3 ^{<i>A</i>}	12.1	281, 519	711.1723	711.1723	449 (3) , 287 (100)	6.3	C31H35O19	Cyanidin succinyl dihexoside I	0.55 ± 0.01 ^c	$0.77 \pm 0.03^{\ b}$	1.04 ± 0.04 ^{<i>a</i>}	[⁹⁶]
4 ^{<i>A</i>}	12.6	281, 523	639.1556	639.1506	477 (8) , 287 (100)			Cyanidin derivative				
	12.7	280, 524	919.2503	919.2419	757 (2) , 449 (7) , 287 (100)	9.1	C42H47O23	Cyanidin 3-(p-coumaroyl- 6´caffeoyl) sophoroside I	255 ± 0.07^{a}	$2 31 \pm 0 14^{b}$	254 ± 0.03^{a}	[9]
	12.7	280, 525		791.1968	483 (100), 303 (47), 163 (8)			Delphinidin derivative	2.55 = 0.07	2.01 _ 0.11	2.01 - 0.00	
	12.7	280, 525		645.1419	483 (40), 303 (100)			Delphinidin derivative				
5 ^A	13.7	281, 524	449.1078	449.1051	287 (100), 163 (8)	6.1	$C_{21}H_{21}O_{11}$	Cyanidin 3-hexoside I				[^{55,95}]
	13.8	281, 524	595.1446	595.1444	287 (100)	0.4	C30H27O13	Cyanidin-3-(p-coumaroyl- glucoside)	N. D.	0.49 ± 0.03 ^b	0.74 ± 0.01 ^a	[^{55,97}]

Table 10. Total and individual anthocyanins of purple basil (*Ocimum basilicum* cv. 'Red Rubin'). Chromatographic, UV-Vis, and mass spectroscopy characteristics.

Peak	Rt	λmax	Theorical (m/z)	Experimental (m/z)	MS/MS fragmentation	Error	Molecular	Assignment	PURPLE Concer	E BASIL – Antho tration mg/g dry	cyanins y basis	
nº	(min)	(nm)	[M]+	[M] ⁺	(m/z)	(Δ ppm)	Formula	Tentative identification	Indoor	Greenhouse	Field	Ref.
6 ^{<i>A</i>}	14	281, 320 (sh), 523	935.2452	935.2364	449 (7) , 287 (100)	9.4	C42H47O24	Cyanidin 3-(caffeoyl) diglucoside-5-glucoside				[⁹⁵]
	14.2	287, 325(sh), 523		775.2025	467 (100), 303 (15), 287 (25), 163 (21)			Cyanidin derivative	2.95 ± 0.12 h	2.52 + 0.00 6	4 22 + 0.11 a	
	14.4	282, 312(sh), 523	919.2503	919.2425	757 (7), 449 (10), 287 (100)	8.4	C42H47O23	Cyanidin 3-(<i>p</i> -coumaroyl- 6´caffeoyl) sophoroside II	5.85 ± 0.15	$3.35 \pm 0.09^{\circ}$	4.22 ± 0.11 "	[9]
	14.6	281, 312 (sh), 524	449.1078	449.1063	287 (100)	3.5	C ₂₁ H ₂₁ O ₁₁	Cyanidin 3-hexoside II				[^{55,95}]
7 ^A	14.8	282, 320 (sh), 524	535.1082	535.1043	287 (100), 163 (4)	7.4	C24H23O14	Cyanidin malonoyl glucoside				[⁹⁷]
	14.8	282, 320 (sh), 524		947.2299	477 (28), 287 (100)			Cyanidin derivative	0.61.0.00.0	0.55 0.00 h	1.00 0.044	
	15.2	282, 315 (sh), 524	933.2659	933.2555	771 (2), 463 (6), 301 (100)	11.1	C43H49O23	Peonidin 3-caffeoyl-rutinoside 5-glucoside	$0.61 \pm 0.00^{\circ}$	$0.75 \pm 0.03^{\circ}$	1.29 ± 0.04 "	[⁹⁸]
	15.5	283, 524		465.1277	303 (100)		$C_{21}H_{21}O_{12}$	Delphinidin 3-hexoside I				[^{95,97}]
8 ^A	16	282, 526		947.2321	477 (6) , 287 (100)			Cyanidin derivative	1.34 ± 0.02^{a}	0.97 ± 0.19 ^b	1.11 ± 0.07 ^b	
9 ^A	16.3	282, 525	449.1078	449.1055	287 (100)	5.2	$C_{21}H_{21}O_{11}$	Cyanidin 3-hexoside III				[^{55,95}]
	16.7	282, 526	463.0871	463.0857	287 (100)	3	$C_{21}H_{19}O_{12}$	Cyanidin-3-O-glucuronide	2.62 ± 0.10^{b}	2.01 ± 0.08 ^c	3.98 ± 0.25 ^{<i>a</i>}	[⁹⁹]
	16.7	282, 527	773.1924	773.1877	449 (3) , 287 (100)	6	C36H37O19	Cyanidin 3-glucoside 5- caffeoylglucoside				[¹⁰⁰]

Peak	Rt	λmax	Theorical (m/z)	Experimental (m/z)	MS/MS fragmentation	Error	Molecular	Assignment	PURPLE Concer	E BASIL – Antho atration mg/g dry	ocyanins y basis	
nº	(min)	(nm)	[M]+	[M] ⁺	(m/z)	(Δ ppm)	Formula	Tentative identification	Indoor	Greenhouse	Field	Ref.
10 ^{<i>B</i>}	17.1	283, 527	611.1607	611.1569	303 (100)	6.1	$C_{27}H_{31}O_{16}$	Delphinidin-3-O- rutinoside				[⁹⁵]
	17.2	285, 327(sh), 527		633.1382	331 (100)			Malvidin derivative				
	17.3	288, 328 (sh), 527	465.1028	465.0992	303 (100)	7.6	$C_{21}H_{21}O_{12}$	Delphinidin 3-hexoside II				[^{95,97}]
	17.6	283, 324(sh), 527		613.3352	303 (100), 265 (15), 163 (29)			Delphinidin derivative	0.70 ± 0.03 ^{<i>a</i>}	0.54 ± 0.01 ^b	$0.71 \pm 0.00^{\ a}$	
	17.7	283, 321(sh) 527	551.1031	551.1038	303 (100)	- 1.1	C24H23O15	Delphinidin 3-(malonyl) glucoside				[⁹⁷]
	17.7	283, 324(sh), 528	757.1974	757.1908	287 (100)	8.8	C36H37O18	Cyanidin 3-(<i>p</i> - coumaroylglucoside) 5-glucoside I				[55]
11 ^A	18.2	284, 529		657.3613	287 (80), 133 (25)			Cyanidin derivative				
	18.3	282, 528	433.1129	433.1128	271 (100)	0.4	C21H21O10	Pelargonidin 3-glucoside	2.71 ± 0.10 ^a	2.08 ± 0.08^{b}	2.75 ± 0.11 ^a	[^{95,101}]
	18.3	282, 528	843.1978	843.1940	287 (100)	4.6	C39H39O21	Cyanidin 3- <i>O</i> - (<i>p</i> -coumaroyl)glucoside- 5-O-malonylglucoside I				[¹⁰²]
12 ^A	18.6	281, 529	447.0922	447.0906	271 (100)	3.5	C ₂₁ H ₁₉ O ₁₁	Pelargonidin 3-glucuronide				[¹⁰³]
	18.6	284, 529	843.1978	843.1911	287 (100)	8	C39H39O21	Cyanidin 3- <i>O</i> -(<i>p</i> - coumaroyl)glucoside-5- <i>O</i> - malonylglucoside II	1.79 ± 0.03 ^a	1.31 ± 0.05 ^b	1.41 ± 0.05 ^b	[¹⁰²]
13	18.8	282, 528		565.1158	495 (8), 303 (100)			Delphinidin derivative				
	18.8	284, 529		780.4507	477 (8), 287 (100), 177 (20), 133 (59)			Cyanidin derivative	< LOQ	<loq< td=""><td>< LOQ</td><td></td></loq<>	< LOQ	

Peak	Rt	λmax	Theorical (m/z)	Experimental (m/z)	MS/MS fragmentation	Error	Molecular	Assignment	PURPLE BASIL – Anthocyanins Concentration mg/g dry basis			
n ^o (r	(min)	(nm)	[M]+	[M] ⁺	(m/z)	(Δ ppm)	Formula	Formula Tentative identification	Indoor	Greenhouse	Field	Ref.
13	18.9	282, 528	477.1028	477.1014	301 (100)	2.9	$C_{22}H_{21}O_{12}$	Peonidin glucuronide I	< L00	<100	< LOO	[¹⁰⁴]
	19	286, 528	595.1657	595.1633	287 (100)	4.2	C27H31O15	Cyanidin 3-rutinoside				[⁹⁵]
14 ^{<i>A</i>}	19.5	283, 529	477.1028	477.1008	301 (100)	4.1	C22H21O12	Peonidin glucuronide II				[¹⁰⁴]
	19.8	287, 530		491.1195	271 (100), 163 (13)			Pelargonidin derivative				
	19.8			857.2077	287 (100)			Cyanidin derivative				
	19.9	285, 530		789.4366	287 (100), 133 (57)			Cyanidin derivative	2 57 + 0 07 ª	1.55 ± 0.05^{b}	1.54 ± 0.07^{b}	
	19.9	285, 530		644.1050	287 (100)			Cyanidin derivative	2.57 ± 0.07	1.55 ± 0.05	1.54 ± 0.07	
	19.9	285, 530		873.4586	287 (100), 177 (27), 133 (72)			Cyanidin derivative				
	20.5	285, 531	519.1133	519.1095	271 (100)	7.4	C ₂₄ H ₂₃ O ₁₃	Pelargonidin 3- (malonoyl)glucoside				[⁹⁵]
	20.8	286, 320 (sh), 530	549.1239	549.1194	287 (100)	8.2	C ₂₅ H ₂₅ O ₁₄	Cyanidin 3-(6"-succinyl) glucoside				[⁹⁶]
15	21.4	283, 315 (sh), 529		461.1054	271 (100)			Pelargonidin derivative	< LOQ	< LOQ	< LOQ	

Total anthocyanins

 $21.66 \pm 0.49^{\ b} \qquad 18.80 \pm 0.38^{\ c} \qquad 25.33 \pm 0.33^{\ a}$

Results expressed in mg/g dry basis. Values are the mean of three replications (\pm standard error). Superscripts in uppercase: the peaks were quantified as cyanidin 3-glicoside equivalents (A), and delphinidin 3-glicoside equivalents (B) .Different superscripts in the same line indicate significant difference (p < 0.05). N.D.: not detected. < LOQ: value lower than the limit of quantification. Sh: shoulder.

3.5 Antioxidant capacity

The average of ABTS antioxidant capacities of the parsley, geen and purple basil extracts are presented in **Table 11**. The ABTS assay is based on the ABTS radical capture, a method with reproducible results, good stability, and solubility, which is one of the fastest tests of antioxidant activity. Moreover, it provides a variety of maximum absorption and analyzes both lipophilic and hydrophilic compounds. ⁶²

The extracts from parsley leaves of field cultivated plants were able to scavenge ABTS radical with a value of 76.57 μ M TE/g DW which was approximately 1.4 times higher than the values of extracts from plants of the indoor and greenhouse systems. The averages of the antioxidant capacity of extracts of parsley leaves of plants from the indoor and greenhouse systems were not significantly different from each other (p > 0.05). In the research of Shan et al.⁵⁰, the ABTS antioxidant capacity of parsley presented levels of 63.1 μ M TE/g DW.

ABTS – Equivalent trolox (µMol TE/g d.w.)								
	Parsley	Green Basil	Purple basil					
Indoor	$53.99\pm0.33~^{b}$	215.53 ± 0.56 $^{\rm c}$	241.11 ± 2.84 ^b					
Greenhouse	$53.05\pm1.07~^{b}$	342.12 ± 2.14 ^b	$225.19\pm0.84~^{\text{b}}$					
Field	76.57 ± 1.58 $^{\rm a}$	490.93 ± 6.81 ^a	514.71 ± 9.52 ^a					

Table 11. Antioxidant capacities determined by the ABTS assay

Results expressed in μ Mol TE/g dry weight. Values are the mean of three replications (± standard error). Different superscripts in the same column indicate significant difference (p < 0.05)

The extracts retrieved from green basil leaves from the field cultivated plants scavenged ABTS radical with a high value: 490.93 μ M TE/g DW. This value is 1.4 times higher than the data determined in plants from the greenhouse system and 2.3 times higher than the value of plants from the indoor system. In the purple basil plants, the same trend was observed. Samples of the field stood out with their scavenging capacity (514.71 μ M TE/g DW). The extracts of purple basil leaves from the indoor and greenhouse plants, in relation to the average of antioxidant capacity, did not differ significantly (p > 0.05). Shan and coworkers⁵⁰ found, for the ABTS antioxidant capacity of sweet basil leaves, a value of 295.9 μ M TE/g DW. The authors also observed that the

antioxidant capacity of basil leaves, when compared to other six species (oregano, sage, thyme, rosemary, mint, and sweet basil), was more than three times lower than in oregano plants, which presented 1,000 μ M TE/g DW.

The data described above are within the results reported in the literature; the exception is the higher antioxidant capacity of plants grown under field conditions. These results on antioxidant capacity of the extracts emphasize the importance of phenolic compounds, which is an indicative of a noteworthy contribution. Moreover, the antioxidant capacity produced by flavonoids is increased with the number of substituted hydroxyl groups on ring B (especially at C-3').⁶³

In parsley plants, the elevated antioxidant activity detected in samples retrieved from plants in the field cultivation system might be an outcome of high vitamin C concentration that would complement the action of phenolics and carotenoids. As for basil plants, extracts of phenolic compounds were rich in rosmarinic acid, which has four hydroxyl groups. Furthermore, flavonols and flavones were found in the extracts, as well as other hydroxycinnamic acids. There is evidence that rosmarinic acid is a potent antioxidant, just like other hydroxycinnamic acids.^{64,65} Lastly, rosmarinic acid demonstrated to have a higher antioxidant activity than butylated hydroxytoluene (BHT) and α -tocopherol when the antioxidant activity using the Rancimat Method was evaluated, and it was used as lipid substrate corn oil.⁶⁵ Samples from field cultivation of purple basil had higher antioxidant power. This could probably be attributed to the concentration of anthocyanins whose content was higher in that cultivation system.

Thus, from the results of the research it was shown that: in the case of the ascorbic acid content, it is noticeable that the field system was able to modulate it in a much better way for parsley plants, whereas basil plants (green and purple) had their best values of ascorbic acid in the greenhouse system.

The carotenoids of the three studied herbs were well modulated by the indoor system, with the exception of purple basil that had its highest amount of carotenoids in the greenhouse system, perhaps due to its coloration and for not having achieved the maximum concentration in this type of cultivation.

The results observed in terms of phenolic compounds modulation were different for parsley and basil (green and purple) plants. The concentration of these compounds in parsley had their greatest value in the greenhouse system, although with not much difference than the other cultivation systems. In the case of green and purple basil, the phenolic compounds (including anthocyanins) were modulated better in the field (organic cultivation).

In what concerns productivity, plants grown in the indoor chamber were the ones with the better results. Along with a satisfactory modulation of carotenoids, this system presented the shortest harvesting point. Therefore, a high productivity with a high concentration of carotenoids could be achieved in a short production time.

Overall, the results of the present study indicate that the evaluated aromatic plant species present abounding concentrations of bioactive compounds of a wide-ranging complexity and diversity. For that reason, these species are a potential source of natural antioxidants. It is also evident that the quality and intensity of light influence in the quantity of the bioactives in each cultivation system, as all the evidences showed that the indoor system provides a sufficient ambiance for bioactive compounds synthesis. At the same time, they show that the synthesis of bioactive compounds that generates the highest antioxidant activity is, among the three, the open field system (the organic cultivation).

SUPPORTING INFORMATION

Contents about LED light spectrum of the indoor chamber, chromatograms of ascorbid acid, and chromatograms obtained by HPLC-DAD, MS, and MS² spectra, along with the descriptions of some of the identified carotenoids, phenolic compounds, and anthocyanins in the three plant species.

AKNOWLEDGEMENT

The authors aknowledge CAPES (Coordination for the Improvement of Higher Education Personnel) for financial support.

REFERENCES

- Nicula, C.; Buie, A.; Bran, O. Accumulation of Chlorophyll and Carotenoids Pigmnets in Plants Grown under Artificial Light. *Carpathian J. Food Sci. Technol.* 2012, 4 (1), 37–45.
- United Nations. World Urbanization Prospects: The 2014 Revision, Highlights; New York, 2014. https://doi.org/10.4054/DemRes.2005.12.9.
- Hasan, M. M.; Bashir, T.; Ghosh, R.; Lee, S. K.; Bae, H. An Overview of LEDs' Effects on the Production of Bioactive Compounds and Crop Quality. *Molecules* 2017, 22 (9), 1–12. https://doi.org/10.3390/molecules22091420.
- (4) Daly, T.; Jiwan, M. A.; O'Brien, N. M.; Aherne, S. A. Carotenoid Content of Commonly Consumed Herbs and Assessment of Their Bioaccessibility Using an In Vitro Digestion Model. *Plant Foods Hum. Nutr.* 2010, 65 (2), 164–169. https://doi.org/10.1007/s11130-010-0167-3.
- (5) Gunasekar, M.; Geemon, K.; Mariwala, S. J. Health Benefits of Bioactive Molecules from Spices and Aromatic Plants. *Indian Soc. Spices* 2012, 21 (2), 87–101.
- Yashin, A.; Yashin, Y.; Xia, X.; Nemzer, B. Antioxidant Activity of Spices and Their Impact on Human Health: A Review. *Antioxidants* 2017, 6 (3), 18. https://doi.org/10.3390/antiox6030070.
- (7) Embuscado, M. E. Spices and Herbs: Natural Sources of Antioxidants a Mini Review. J. Funct. Foods 2015, 18, 811–819. https://doi.org/10.1016/j.jff.2015.03.005.
- Nour, V.; Trandafir, I.; Cosmulescu, S. Bioactive Compounds, Antioxidant Activity and Nutritional Quality of Different Culinary Aromatic Herbs. *Not. Bot. Horti* Agrobot. Cluj-Napoca 2017, 45 (1), 179–184. https://doi.org/10.15835/nbha45110678.
- (9) Fernandes, F.; Pereira, E.; Círić, A.; Soković, M.; Calhelha, R. C.; Barros, L.; Ferreira, I. C. F. R. Ocimum Basilicum Var. Purpurascens Leaves (Red Rubin Basil): A Source of Bioactive Compounds and Natural Pigments for the Food Industry. *Food Funct.* 2019, *10* (6), 3161–3171. https://doi.org/10.1039/c9fo00578a.
- Moghaddam, M.; Mehdizadeh, L. Variability of Total Phenolic, Flavonoid and Rosmarinic Acid Content among Iranian Basil Accessions. *LWT - Food Sci.*

Technol. **2015**, *63* (1), 535–540. https://doi.org/10.1016/j.lwt.2015.03.068.

- (11) Muráriková, A.; Neugebauerová, J. Seasonal Variation of Ascorbic Acid and Nitrate Levels in Selected Basil (Ocimum Basilicum 1.) Varieties. *Hortic. Sci.* 2018, 45 (1), 47–52. https://doi.org/10.17221/216/2016-HORTSCI.
- (12) Slimestad, R.; Fossen, T.; Brede, C. Flavonoids and Other Phenolics in Herbs Commonly Used in Norwegian Commercial Kitchens. *Food Chem.* 2019, 309. https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2019.125678.
- (13) Laribi, B.; Kouki, K.; M'Hamdi, M.; Bettaieb, T. Coriander (Coriandrum Sativum L.) and Its Bioactive Constituents. *Fitoterapia* 2015, 103, 9–26. https://doi.org/10.1016/j.fitote.2015.03.012.
- (14) Rosa, J. S. da; Godoy, R. L. de O.; Oiano Neto, J.; Campos, R. da S.; Matta, V. M. da; Freire, C. A.; Silva, A. S. da; Souza, R. S. de. Desenvolvimento de Um Método de Análise de Vitamina C Em Alimentos Por Cromatografa Líquida de Alta Eficiência e Exclusão Iônica. *Ciência e Tecnol. Aliment.* 2007, *27* (4), 837–846. https://doi.org/10.1590/s0101-20612007000400025.
- (15) Mercadante, A. Z.; Rodriguez-Amaya, D. B. Effects of Ripening, Cultivar Differences, and Processing on the Carotenoid Composition of Mango. J. Agric. Food Chem. 1998, 46 (1), 128–130.
- (16) Rodrigues, E.; Mariutti, L. R. B.; Mercadante, A. Z. Carotenoids and Phenolic Compounds from Solanum Sessiliflorum, an Unexploited Amazonian Fruit, and Their Scavenging Capacities against Reactive Oxygen and Nitrogen Species. J. Agric. Food Chem. 2013, 61 (12), 3022–3029. https://doi.org/10.1021/jf3054214.
- (17) Singleton, V.; Rossi, J. Colorimetry of Total Phenolic Compounds with Phosphomolybdic-Phosphotungstic Acid Reagents. Am. J. Enol. Vitic. 1965, 16, 144–158.
- (18) Becatti, E.; Chkaiban, L.; Tonutti, P.; Forcato, C.; Bonghi, C.; Ranieri, A. M. Short-Term Postharvest Carbon Dioxide Treatments Induce Selective Molecular and Metabolic Changes in Grape Berries. J. Agric. Food Chem. 2010, 58 (13), 8012–8020.
- (19) Vargas, E. F. de; Jablonsky, A.; Flores, S. H.; Rios, A. de O. Pelargonidin 3-Glucoside Extraction from the Residue from Strawberry Processing (Fragaria X Ananassa). *Curr. Bioact. Compd.* 2016, *12* (4), 269–275. https://doi.org/10.2174/1573407212666160512120242.
- (20) Rodriguez-Saona, L. E.; Wrolstad, R. E. Extraction, Isolation and Purification of

Anthocyanins. *Curr. Protoc. Food Anal. Chem.* **2001**, F1.1.1-F1.1.11. https://doi.org/10.1016/j.phrs.2011.05.022.

- (21) Zanatta, C. F.; Mercadante, A. Z. Carotenoid Composition from the Brazilian Tropical Fruit Camu-Camu (Myrciaria Dubia). *Food Chem.* 2007, *101* (4), 1526– 1532. https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2006.04.004.
- (22) De Rosso, V. V.; Mercadante, A. Z. Identification and Quantification of Carotenoids, by HPLC-PDA-MS/MS, from Amazonian Fruits. J. Agric. Food Chem. 2007, 55 (13), 5062–5072. https://doi.org/10.1021/jf0705421.
- Re, R.; Pellegrini, N.; Proteggente, A.; Pannala, A.; Yang, M.; Rice-Evans, C. Antioxidant Activity Applying an Improved ABTS Radical Cation Decolorization Assay. *Free Radic. Biol. Med.* 1999, 26 (9–10), 1231–1237. https://doi.org/10.1016/S0891-5849(98)00315-3.
- (24) Lin, K. H.; Huang, M. Y.; Huang, W. D.; Hsu, M. H.; Yang, Z. W.; Yang, C. M. The Effects of Red, Blue, and White Light-Emitting Diodes on the Growth, Development, and Edible Quality of Hydroponically Grown Lettuce (Lactuca Sativa L. Var. Capitata). *Sci. Hortic. (Amsterdam).* 2013, *150*, 86–91. https://doi.org/10.1016/j.scienta.2012.10.002.
- (25) Cope, K. R.; Bugbee, B. Spectral Effects of Three Types of White Light-Emitting Diodes on Plant Growth and Development: Absolute versus Relative Amounts of Blue Light. *HortScience* 2013, 48 (4), 504–509. https://doi.org/10.21273/hortsci.48.4.504.
- (26) Taiz, L.; Zeiger, E. Fotossíntese:Considerações Fisiológicas e Ecológicas. In *Fisiologia Vegetal*; Taiz, L., Zeiger, E., Eds.; Artmed: Porto Alegre, 2004; pp 199–219.
- (27) Liu, H. K.; Chen, Y. Y.; Hu, T. T.; Zhang, S. J.; Zhang, Y. H.; Zhao, T. Y.; Yu, H. E.; Kang, Y. F. The Influence of Light-Emitting Diodes on the Phenolic Compounds and Antioxidant Activities in Pea Sprouts. *J. Funct. Foods* 2016, 25, 459–465. https://doi.org/10.1016/j.jff.2016.06.028.
- (28) WUTKE, E. B. Caracterização Fenológica e Avaliação Agronômica de Genótipos de Guandu (Cajanus Cajan (L.) Millsp.), Universidade De Sâo Paulo -Escola Superior de Agricultura "Luis de Queiroz," 1987.
- (29) Larcher, W. *Ecofisiologia Vegetal*, 3rd ed.; RIMA: São Carlos, 2004.
- (30) Almeida, L. P. de; Alvarenga, A. A. de; Castro, E. M. de; Zanela, S. M.; Vieira,C. V. Crescimento Inicial de Plantas de Cryptocaria Aschersoniana Mez.

Submetidas a Níveis de Radiação Solar. *Ciência Rural* **2004**, *34* (1), 83–88. https://doi.org/10.1590/s0103-84782004000100013.

- (31) García-Macías, P.; Ordidge, M.; Vysini, E.; Waroonphan, S.; Battey, N. H.; Gordon, M. H.; Hadley, P.; John, P.; Lovegrove, J. A.; Wagstaffe, A. Changes in the Flavonoid and Phenolic Acid Contents and Antioxidant Activity of Red Leaf Lettuce (Lollo Rosso) Due to Cultivation under Plastic Films Varying in Ultraviolet Transparency. J. Agric. Food Chem. 2007, 55 (25), 10168–10172. https://doi.org/10.1021/jf071570m.
- (32) Tsunoyama, Y.; Morikawa, K.; Shiina, T.; Toyoshima, Y. Blue Light Specific and Differential Expression of a Plastid σ Factor, Sig5 in Arabidopsis Thaliana. *FEBS Lett.* 2002, *516* (1–3), 225–228. https://doi.org/10.1016/S0014-5793(02)02538-3.
- (33) Kopek, K. Zelenina ve Vyživě Člověka (Vegetables in Human Nutrition); Grada
 Publishing: Praha, Czech Republic, 2010.
- (34) Zenoozian, M. S. Effect of Modified Atmosphere Packaging on Quality Changes of Fresh Parsley, Spinach and Dill. 2nd Int. Conf. Environ. Sci. Technol. IPCBEE 2011, 6, 76–79.
- (35) Valšíková, M.; Mezeyová, I.; Rehuš, M.; Šlosár, M. Changes of Vitamin C Content in Celery and Parsley Herb after Processing. *Potravin. Slovak J. Food Sci.* 2016, 10 (1), 637–642. https://doi.org/https://doi.org/10.5219/687.
- (36) Dumbravă, D.-G.; Moldovan, C.; Raba, D.-N.; Popa, M.-V. Vitamin C , Chlorophylls , Carotenoids and Xanthophylls Content in Some Basil (Ocimum Basilicum L .) and Rosemary (Rosmarinus Officinalis L .) Leaves Extracts. J. Agroaliment. Process. Technol. 2012, 18 (3), 253–258.
- (37) Smirnoff, N.; Wheeler, G. L. Ascorbic Acid in Plants: Biosynthesis and Function.
 Crit. Rev. Biochem. Mol. Biol. 2000, 35 (4), 291–314.
 https://doi.org/10.1080/07352680091139231.
- (38) Gill, S. S.; Tuteja, N. Reactive Oxygen Species and Antioxidant Machinery in Abiotic Stress Tolerance in Crop Plants. *Plant Physiol. Biochem.* 2010, 48 (12), 909–930. https://doi.org/10.1016/j.plaphy.2010.08.016.
- (39) Wang, S.; Liang, D.; Li, C.; Hao, Y.; Ma, F.; Shu, H. Influence of Drought Stress on the Cellular Ultrastructure and Antioxidant System in Leaves of Drought-Tolerant and Drought-Sensitive Apple Rootstocks. *Plant Physiol. Biochem.* 2012, *51*, 81–89. https://doi.org/10.1016/j.plaphy.2011.10.014.
- (40) Laing, W. A.; Martínez-Sánchez, M.; Wright, M. A.; Bulley, S. M.; Brewster, D.; Dare, A. P.; Rassam, M.; Wang, D.; Storey, R.; Macknight, R. C.; et al. An Upstream Open Reading Frame Is Essential for Feedback Regulation of Ascorbate Biosynthesis in Arabidopsis. *Plant Cell* 2015, 27 (3), 772–786. https://doi.org/10.1105/tpc.114.133777.
- (41) Batista, M. A.; Pinheiro-Sant'Ana, H. M.; Chaves, J. B. P.; Moraes, F. A. Carotenos e Provitamina A Em Bertalha e Ervas Aromáticas Comercializadas Em Viçosa, Estado de Minas Gerais, Durante as Quatro Estações Do Ano. *Acta Sci. Heal. Sci.* 2006, 28 (1), 93–100.
- (42) Kopsell, D. A.; Kopsell, D. E.; Curran-Celentano, J. Carotenoid and Chlorophyll Pigments in Sweet Basil Grown in the Field and Greenhouse. *HortScience* 2005, 40 (5), 1230–1233.
- (43) Fraszczak, B.; Golcz, A.; Zawirska-Wojtasiak, R.; Janowska, B. Growth Rate of Sweet Basil and Lemon Balm Plants Grown under Fluorescent Lamps and Led Modules. *Acta Sci. Pol. Hortorum Cultus* **2014**, *13* (2), 3–13.
- (44) Souza, G. S. De; Castro, E. M. De; Soares, Â. M.; Pinto, J. E. B. P. Características Biométricas e Fisiológicas de Plantas Jovens de Mikania Glomerata Sprengel e Mikania Laevigata Schultz Bip. Ex Baker Cultivadas Sob Malhas Coloridas. *Rev. Bras. Biociências* 2010, 8 (4), 330–335.
- (45) Rababah, T. M.; Ereifej, K. I.; Esoh, R. B.; Al-U'Datt, M. H.; Alrababah, M. A.; Yang, W. Antioxidant Activities, Total Phenolics and HPLC Analyses of the Phenolic Compounds of Extracts from Common Mediterranean Plants. *Nat. Prod. Res.* 2011, 25 (6), 596–605. https://doi.org/10.1080/14786419.2010.488232.
- (46) Luthria, D. L.; Mukhopadhyay, S.; Kwansa, A. L. A Systematic Approach for Extraction of Phenolic Compounds Using Parsley (Petroselinum Crispum) Flakes as a Model Substrate. *J. Sci. Food Agric.* 2006, 86 (2006), 1350–1358. https://doi.org/10.1002/jsfa.
- (47) McCance, K. R.; Flanigan, P. M.; Quick, M. M.; Niemeyer, E. D. Influence of Plant Maturity on Anthocyanin Concentrations, Phenolic Composition, and Antioxidant Properties of 3 Purple Basil (Ocimum Basilicum L.) Cultivars. J. Food Compos. Anal. 2016, 53, 30–39. https://doi.org/10.1016/j.jfca.2016.08.009.
- (48) Kwee, E. M.; Niemeyer, E. D. Variations in Phenolic Composition and Antioxidant Properties among 15 Basil (Ocimum Basilicum L.) Cultivars. *Food*

Chem. **2011**, *128* (4), 1044–1050. https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2011.04.011.

- (49) Flanigan, P. M.; Niemeyer, E. D. Effect of Cultivar on Phenolic Levels, Anthocyanin Composition, and Antioxidant Properties in Purple Basil (Ocimum Basilicum L.). *Food Chem.* 2014, 164, 518–526. https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2014.05.061.
- (50) Shan, B.; Cai, Y. Z.; Sun, M.; Corke, H. Antioxidant Capacity of 26 Spice Extracts and Characterization of Their Phenolic Constituents. J. Agric. Food Chem. 2005, 53 (20), 7749–7759. https://doi.org/10.1021/jf051513y.
- (51) Lee, J.; Scagel, C. F. Chicoric Acid Found in Basil (Ocimum Basilicum L.) Leaves. *Food Chem.* 2009, 115 (2), 650–656. https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2008.12.075.
- (52) Lee, J.; Scagel, C. F. Chicoric Acid Levels in Commercial Basil (Ocimum Basilicum) and Echinacea Purpurea Products. J. Funct. Foods 2010, 2 (1), 77–84. https://doi.org/10.1016/j.jff.2009.11.004.
- (53) Shen, Y.; Prinyawiwatkul, W.; Lotrakul, P.; Xu, Z. Comparison of Phenolic Profiles and Antioxidant Potentials of the Leaves and Seeds of Thai Holy and Sweet Basils. *Int. J. Food Sci. Technol.* 2015, 50 (7), 1651–1657. https://doi.org/10.1111/ijfs.12817.
- (54) Javanmardi, J.; Khalighi, A.; Kashi, A.; Bais, H. P.; Vivanco, J. M. Chemical Characterization of Basil (Ocimum Basilicum L.) Found in Local Accessions and Used in Traditional Medicines in Iran. J. Agric. Food Chem. 2002, 50 (21), 5878–5883. https://doi.org/10.1021/jf020487q.
- (55) Phippen, W. B.; Simon, J. E. Anthocyanins in Basil (Ocimum Basilicum L.). J.
 Agric. Food Chem. 1998, 46 (5), 1734–1738. https://doi.org/10.1021/jf970887r.
- (56) Taiz, L.; Zeiger, E. Metabólitos Secundários e Defesa Vegetal. In *Fisiologia Vegetal*; Taiz, L., Zeiger, E., Eds.; Artmed: Porto Alegre, 2004; pp 309–334.
- (57) Taulavuori, K.; Hyöky, V.; Oksanen, J.; Taulavuori, E.; Julkunen-Tiitto, R. Species-Specific Differences in Synthesis of Flavonoids and Phenolic Acids under Increasing Periods of Enhanced Blue Light. *Environ. Exp. Bot.* 2016, *121*, 145–150. https://doi.org/10.1016/j.envexpbot.2015.04.002.
- (58) Dou, H.; Niu, G.; Gu, M.; Masabni, J. G. Effects of Light Quality on Growth and Phytonutrient Accumulation of Herbs under Controlled Environments. *Horticulturae* 2017, *3* (36), 1–11. https://doi.org/10.3390/horticulturae3020036.

- (59) Meng, X.; Xing, T.; Wang, X. The Role of Light in the Regulation of Anthocyanin Accumulation in Gerbera Hybrida. *Plant Growth Regul.* 2004, 44
 (3), 243–250. https://doi.org/10.1007/s10725-004-4454-6.
- (60) Li, Q. Effects of Light Quality on Growth and Phytochemical Accumulation of Lettuce and Salvia Miltiorrhiza Bunge, Northwest A & F University: Xianyang, China, 2010.
- (61) Gould, K. S. Nature's Swiss Army Knife: The Diverse Protective Roles of Anthocyanins in Leaves. J. Biomed. Biotechnol. 2004, 2004 (5), 314–320. https://doi.org/10.1155/S1110724304406147.
- (62) Kuskoski, E. M.; Asuero, A. G.; Troncoso, A. M.; Mancini-Filho, J.; Fett, R. Aplicación de Diversos Métodos Químicos Para Determinar Actividad Antioxidante En Pulpa de Frutos. *Ciência e Tecnol. Aliment.* 2005, 25 (4), 726–732. https://doi.org/10.1590/s0101-20612005000400016.
- (63) Rajalakshmi, D.; Narasimhan, S. Food Antioxidants: Sources and Methods of Evaluation. In *Food Antioxidants: Technological, Toxicological, and Health Perspectives*; Madhavi, D. L., S.S., D., Salunkhe, D. K., Eds.; Marcel Dekker: New York, 1996; pp 65–83.
- (64) Larson, R. A. The Antioxidants of Higher Plants. *Phytochemistry* 1988, 27 (4), 969–978.
- (65) Chen, J. H.; Ho, C. T. Antioxidant Activities of Caffeic Acid and Its Related Hydroxycinnamic Acid Compounds. J. Agric. Food Chem. 1997, 45 (7), 2374– 2378. https://doi.org/10.1021/jf970055t.
- (66) De Rosso, V. V.; Mercadante, A. Z. HPLC-PDA-MS/MS of Anthocyanins and Carotenoids from Dovyalis and Tamarillo Fruits. J. Agric. Food Chem. 2007, 55
 (22), 9135–9141. https://doi.org/10.1021/jf071316u.
- (67) Delgado-Pelayo, R.; Hornero-Méndez, D. Identification and Quantitative Analysis of Carotenoids and Their Esters from Sarsaparilla (Smilax Aspera L.) Berries. J. Agric. Food Chem. 2012, 60 (33), 8225–8232. https://doi.org/10.1021/jf302719g.
- (68) Swift, I. E.; Milborrow, B. V.; Jeffrey, S. W. Formation of Neoxanthin, Diadinoxanthin and Peridinin from [14C]Zeaxanthin by a Cell-Free System from Amphidinium Carterae. *Phytochemistry* **1980**, *21* (12), 2859–2864. https://doi.org/10.1016/0031-9422(80)85056-4.
- (69) Zhang, L.; Xu, L.; Ye, Y. hua; Zhu, M. fang; Li, J.; Tu, Z. cai; Yang, S. han;

Liao, H. Phytochemical Profiles and Screening of α-Glucosidase Inhibitors of Four Acer Species Leaves with Ultra-Filtration Combined with UPLC-QTOF-MS/MS. *Ind. Crops Prod.* **2019**, *129*, 156–168. https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2018.11.051.

- (70) Simirgiotis, M. J.; Benites, J.; Areche, C.; Sepu, B. Antioxidant Capacities and Analysis of Phenolic Compounds in Three Endemic Nolana Species by HPLC-PDA-ESI-MS. *Molecules* 2015, 20 (6), 11490–11507. https://doi.org/10.3390/molecules200611490.
- (71) Mekky, R. H.; Contreras, M. D. M.; El-Gindi, M. R.; Abdel-Monem, A. R.; Abdel-Sattar, E.; Segura-Carretero, A. Profiling of Phenolic and Other Compounds from Egyptian Cultivars of Chickpea (Cicer Arietinum L.) and Antioxidant Activity: A Comparative Study. *RSC Adv.* 2015, 5 (23), 17751– 17767. https://doi.org/10.1039/c4ra13155j.
- (72) Ibrahim, R. M.; El-Halawany, A. M.; Saleh, D. O.; El Naggar, E. M. B.; EL-Shabrawy, A. E. R. O.; El-Hawary, S. S. HPLC-DAD-MS/MS Profiling of Phenolics from Securigera Securidaca Flowers and Its Anti-Hyperglycemic and Anti-Hyperlipidemic Activities. *Brazilian J. Pharmacogn.* 2015, 25 (2), 134–141. https://doi.org/10.1016/j.bjp.2015.02.008.
- (73) Yannai, S. Dictionary of Food Compounds with CD-ROM: Additives, Flavors, and Ingredients, 1st ed.; Boca Raton: Chapman & Hall/CRC, 2004.
- (74) Piasecka, A.; Sawikowska, A.; Krajewski, P.; Kachlicki, P. Combined Mass Spectrometric and Chromatographic Methods for In-Depth Analysis of Phenolic Secondary Metabolites in Barley Leaves. J. Mass Spectrom. 2015, 50, 513–532. https://doi.org/10.1002/jms.3557.
- Justesen, U. Negative Atmospheric Pressure Chemical Ionisation Low-Energy Collision Activation Mass Spectrometry for the Characterisation of Flavonoids in Extracts of Fresh Herbs. J. Chromatogr. A 2000, 902, 369–379. https://doi.org/10.1016/S0021-9673(00)00861-X.
- (76) Pandey, R.; Kumar, B. HPLC-QTOF-MS/MS-Based Rapid Screening of Phenolics and Triterpenic Acids in Leaf Extracts of Ocimum Species and Their Interspecies Variation. J. Liq. Chromatogr. Relat. Technol. 2016, 39 (4), 225– 238. https://doi.org/10.1080/10826076.2016.1148048.
- (77) Hossain, M. B.; Rai, D. K.; Brunton, N. P.; Martin-Diana, A. B.; Barry-Ryan, A. C. Characterization of Phenolic Composition in Lamiaceae Spices by LC-ESI-

MS/MS. J. Agric. Food Chem. **2010**, 58 (19), 10576–10581. https://doi.org/10.1021/jf102042g.

- (78) Lin, L. Z.; Lu, S.; Harnly, J. M. Detection and Quantification of Glycosylated Flavonoid Malonates in Celery, Chinese Celery, and Celery Seed by LC-DAD-ESI/MS. J. Agric. Food Chem. 2007, 55 (4), 1321–1326. https://doi.org/10.1021/jf0624796.
- (79) Spínola, V.; Pinto, J.; Castilho, P. C. Identification and Quantification of Phenolic Compounds of Selected Fruits from Madeira Island by HPLC-DAD-ESI-MSn and Screening for Their Antioxidant Activity. *Food Chem.* 2015, *173*, 14–30. https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2014.09.163.
- (80) Abu-Reidah, I. M.; Arráez-Román, D.; Al-Nuri, M.; Warad, I.; Segura-Carretero,
 A. Untargeted Metabolite Profiling and Phytochemical Analysis of Micromeria
 Fruticosa L. (Lamiaceae) Leaves. *Food Chem.* 2019, 279, 128–143.
 https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2018.11.144.
- (81) Lin, L. Z.; Harnly, J. M. A Screening Method for the Identification of Glycosylated Flavonoids and Other Phenolic Compounds Using a Standard Analytical Approach for All Plant Materials. J. Agric. Food Chem. 2007, 55 (4), 1084–1096. https://doi.org/10.1021/jf062431s.
- (82) Mascherpa, D.; Carazzone, C.; Marrubini, G.; Gazzani, G.; Papetti, A. Identification of Phenolic Constituents in Cichorium Endivia Var. Crispum and Var. Latifolium Salads by High-Performance Liquid Chromatography with Diode Array Detection and Electrospray Ioniziation Tandem Mass Spectrometry. J. Agric. Food Chem. 2012, 60 (49), 12142–12150. https://doi.org/10.1021/jf3034754.
- (83) Khoza, B. S.; Gbashi, S.; Steenkamp, P. A.; Njobeh, P. B.; Madala, N. E. Identification of Hydroxylcinnamoyl Tartaric Acid Esters in Bidens Pilosa by UPLC-Tandem Mass Spectrometry. *South African J. Bot.* 2016, 103, 95–100. https://doi.org/10.1016/j.sajb.2015.08.018.
- Pérez-Ramírez, I. F.; Reynoso-Camacho, R.; Saura-Calixto, F.; Pérez-Jiménez, J. (84) Comprehensive Characterization of Extractable and Nonextractable Phenolic Compounds by High-Performance Liquid Chromatography-Electrospray Ionization-Quadrupole Time-of-Flight of a Grape/Pomegranate Pomace Dietary J. Food Chem. 2018. 66 (3), Supplement. Agric. 661–673. https://doi.org/10.1021/acs.jafc.7b05901.

- (85) Bergeron, C.; Gafner, S.; Batcha, L. L.; Angerhofer, C. K. Stabilization of Caffeic Acid Derivatives in Echinacea Purpurea L. Glycerin Extract. J. Agric. Food Chem. 2002, 50 (14), 3967–3970. https://doi.org/10.1021/jf011582m.
- (86) Kelebek, H.; Kadiroğlu, P.; Demircan, N. B.; Selli, S. Screening of Bioactive Components in Grape and Apple Vinegars: Antioxidant and Antimicrobial Potential. J. Inst. Brew. 2017, 123 (3), 407–416. https://doi.org/10.1002/jib.432.
- (87) Abu-Reidah, I. M.; Ali-Shtayeh, M. S.; Jamous, R. M.; Arráez-Román, D.; Segura-Carretero, A. HPLC-DAD-ESI-MS/MS Screening of Bioactive Components from Rhus Coriaria L. (Sumac) Fruits. *Food Chem.* 2015, *166*, 179– 191. https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2014.06.011.
- (88) Barros, L.; Dueñas, M.; Ferreira, I. C. F. R.; Maria Carvalho, A.; Santos-Buelga, C. Use of HPLC-DAD-ESI/MS to Profile Phenolic Compounds in Edible Wild Greens from Portugal. *Food Chem.* 2011, *127* (1), 169–173. https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2011.01.009.
- Mena, P.; Cirlini, M.; Tassotti, M.; Herrlinger, K. A.; Dall'Asta, C.; Del Rio, D.
 Phytochemical Profiling of Flavonoids, Phenolic Acids, Terpenoids, and Volatile
 Fraction of a Rosemary (Rosmarinus Officinalis L.) Extract. *Molecules* 2016, 21 (11), 1–15. https://doi.org/10.3390/molecules21111576.
- (90) Brito, A.; Ramirez, J. E.; Areche, C.; Sepúlveda, B.; Simirgiotis, M. J. HPLC-UV-MS Profiles of Phenolic Compounds and Antioxidant Activity of Fruits from Three Citrus Species Consumed in Northern Chile. *Molecules* 2014, *19* (11), 17400–17421. https://doi.org/10.3390/molecules191117400.
- (91) Gouveia, S. C.; Castilho, P. C. Analysis of Phenolic Compounds from Different Morphological Parts of Helichrysum Devium by Liquid Chromatography with On-Line UV and Electrospray Ionization Mass Spectrometric Detection. *Rapid Commun. Mass Spectrom.* 2009, 23, 3939–3953.
- (92) Gouveia, S. C.; Castilho, P. C. Phenolic Composition and Antioxidant Capacity of Cultivated Artichoke, Madeira Cardoon and Artichoke-Based Dietary Supplements. *Food Res. Int.* **2012**, 48 (2), 712–724. https://doi.org/10.1016/j.foodres.2012.05.029.
- (93) Chen, H. J.; Inbaraj, B. S.; Chen, B. H. Determination of Phenolic Acids and Flavonoids in Taraxacum Formosanum Kitam by Liquid Chromatography-Tandem Mass Spectrometry Coupled with a Post-Column Derivatization Technique. Int. J. Mol. Sci. 2012, 13 (1), 260–285.

https://doi.org/10.3390/ijms13010260.

- (94) Zhou, S.; Shao, Y.; Fu, J.; Xiang, L.; Zheng, Y.; Li, W. Characterization and Quantification of Taxifolin Related Flavonoids in Larix Olgensis Henry Var. Koreana Nakai Extract Analysis and Its Antioxidant Activity Assay. *Int. J. Pharmacol.* **2018**, *14* (4), 534–545. https://doi.org/10.3923/ijp.2018.534.545.
- (95) Wu, X.; Prior, R. L. Identification and Characterization of Anthocyanins by High-Performance Liquid Chromatography-Electrospray Ionization-Tandem Mass Spectrometry in Common Foods in the United States: Vegetables, Nuts, and Grains. J. Agric. Food Chem. 2005, 53 (8), 3101–3113. https://doi.org/10.1021/jf0478861.
- (96) Lee, C.; Han, D.; Kim, B.; Baek, N.; Baik, B. K. Antioxidant and Anti-Hypertensive Activity of Anthocyanin-Rich Extracts from Hulless Pigmented Barley Cultivars. *Int. J. Food Sci. Technol.* **2013**, *48* (5), 984–991. https://doi.org/10.1111/ijfs.12050.
- (97) Wu, X.; Prior, R. L. Systematic Identification and Characterization of Anthocyanins by HPLC-ESI-MS/MS in Common Foods in the United States: Fruits and Berries. J. Agric. Food Chem. 2005, 53 (7), 2589–2599. https://doi.org/10.1021/jf048068b.
- (98) Shinbo, Y.; Nakamura, Y.; Altaf-Ul-AminH., M.; Asahi, H.; Kurokawa, K.; Arita, M.; Saito, K.; Ohta, D.; Shibata, D.; Kanaya, S. KNApSAcK: A Comprehensive Species-Metabolite Relationship Database. In *Plant Metabolomics. Biotechnology in Agriculture and Forestry*; Saito, K., Dixon, R. A., Willmitzer, L., Eds.; Springer, Berlin, Heidelberg, 2006; pp 165–181.
- (99) Eirin, S. T. Contribución Al Establecimiento de Las Bases Científicas Para El Uso de Fracciones Polifenólicas y Fibra Dietética Antioxidante En La Prevención Del Cáncer, Universitat de Barcelona, 2009.
- (100) KEGG COMPOUND database https://www.genome.jp/dbgetbin/www_bget?cpd:C16372 (accessed Nov 11, 2019).
- (101) Vera de Rosso, V.; Hillebrand, S.; Cuevas Montilla, E.; Bobbio, F. O.; Winterhalter, P.; Mercadante, A. Z. Determination of Anthocyanins from Acerola (Malpighia Emarginata DC.) and Açai (Euterpe Oleracea Mart.) by HPLC-PDA-MS/MS. J. Food Compos. Anal. 2008, 21 (4), 291–299. https://doi.org/10.1016/j.jfca.2008.01.001.
- (102) Lou, Q.; Wang, L.; Liu, H.; Liu, Y. Anthocyanin Profiles in Flowers of Grape

 Hyacinth.
 Molecules
 2017,
 22
 (5),
 1–9.

 https://doi.org/10.3390/molecules22050688.

- (103) Banaszewski, K.; Park, E.; Edirisinghe, I.; Cappozzo, J. C.; Burton-Freeman, B.
 M. A Pilot Study to Investigate Bioavailability of Strawberry Anthocyanins and Characterize Postprandial Plasma Polyphenols Absorption Patterns by Q-TOF LC/MS in Humans. J. Berry Res. 2013, 3 (2), 113–126. https://doi.org/10.3233/JBR-130048.
- (104) Wu, X.; Pittman, H. E.; Prior, R. L. Pelargonidin Is Absorbed and Metabolized Differently than Cyanidin after Marionberry Consumption in Pigs. J. Nutr. 2004, 134 (10), 2603–2610. https://doi.org/10.1093/jn/134.10.2603.

SUPPORTING INFORMATION



LED light spectrum of the indoor chamber:

Chromatograms of ascorbic acid from parsley (A), green basil (B), and purple basil (C)



Considering that the description of all the carotenoids, phenolic compounds, and anthocyanins found in our study was already reported in literature, hereon we present the chromatograms, the MS, and MS² spectrum obtained by HPLC-DAD, along with descriptions of some of the identified compounds on the research.

1. Carotenoids

The chromatograms, the MS, and MS² spectrum obtained by HPLC-DAD of the carotenoids from parsley (*Petroselinum crispum* cv. 'Flat leaf'), green basil (*Ocimum basilicum* var. *minimum* cv. 'Greek'), and purple basil (*Ocimum basilicum* cv. 'Red Rubin') were the following:

1.1 Parsley

Figure 1 - Chromatogram obtained by HPLC-DAD of the carotenoids from parsley (*Petroselinum crispum* cv. 'Flat Leaf').



Peak 1 and 2 were identified as all-*trans*-neoxanthin I and II. The two isomers had the same precursor ion at m/z 601 [M + H]⁺, and MS² fragmentation presented ions at: m/z 583 [M + H – 18]⁺, m/z 565 [M – H – 18 – 18]⁺, and m/z 491 [M – H – 18 – 92]⁺ due to the loss of one water molecule, two water molecules, and one water molecule and toluene, respectively. Other fragments were found at m/z 541 and m/z 367.



Peak 4: all-*trans*-antheraxanthin. Its precursor ion was found at m/z 585 [M + H]⁺, and MS² fragmentation presented ions at m/z 567 [M + H – 18]⁺, and m/z 549 [M – H – 18 – 18]⁺, due to the loss of one water molecule, two water molecules, and one water molecule and toluene, respectively. Other fragment was found at m/z 351.





Peak 5: all-*trans*-lutein. The UV-vis spectrum has the following features: maximum absorption limits λ_{max} at 418, 444, 471 nm, and fine structure (% III/II = 61). The mass spectrum in MS showed the protonated molecule at m/z 551 [M + H - 18]⁺, and at m/z at 569 [M + H]⁺, this last one in a minor intensity, evidence that it is lutein because molecules that have non-epsilon ring hydroxyls have, as feature, the presence of the fragment as the most stable molecule. In addition, MS² (551) presented the following fragments: at m/z 551 [M + H - 18]⁺, losing one hydroxyl radical; at m/z 533 [M + H - 18 - 18]⁺, due to the loss of two hydroxyl radicals; and at m/z 476 [M + H - 92 - H]⁺, with loss of toluene.





Peak 6: all-*trans*-zeaxanthin. The UV-visible spectrum had the following characteristics: maximum absorption lengths λ_{max} at 420, 448, 475 nm, and fine structure (% III/II = 30). The mass spectrum in MS showed that its stablest form was a protonated molecule 569 [M + H]⁺, which is the opposite behavior of lutein, and MS² (569) presented the following fragments derived from the polyenic chain: at m/z 551 [M + H - 18]⁺, losing a hydroxyl radical; at m/z 533 [M + H - 18 -18]⁺, losing two hydroxyl radicals; and at m/z 477 [M + H - 92]⁺, due to the loss of toluene.









Peak 8: 13-*cis*-β-carotene



Peak 9: all-*trans*-α-carotene



Peak 10: all-*trans*-β-carotene









Figure 2 - Chromatogram obtained by HPLC-DAD of the carotenoids from green basil (*Ocimum basilicum* var. *minimum* cv. 'Greek').







Peak 4:

• all-*trans*-antheraxanthin





• *cis*-violaxanthin







Peak 6: all-trans-zeaxanthin



Peak 7: 15-*cis*-β-carotene























1.3 Purple basil

Figure 3 - Chromatogram obtained by HPLC-DAD of the carotenoids from purple basil (*Ocimum basilicum* cv. 'Red Rubin').



Peak 1: all-trans-neoxanthin



Peak 2 was tentatively identified as all-*trans*-diadinoxanthin. It had a precursor ion at m/z 583 [M + H]⁺; MS² fragmentation presented ions at m/z 565 [M – H – 18]⁺, due to the loss of a water molecule; and at m/z 491 [M – H – 18 – 92]⁺, due to the loss of one water molecule and toluene.





Peak 4:







• cis-violaxanthin



Peak 5: all-trans-lutein





Peak 8: 15-cis-β-carotene







Peak 10: all-trans-α-carotene





Peak 11: all-*trans*-β-carotene



Peak 12: 9-cis-β-carotene



2. Phenolic compounds (non anthocyanics)

The chromatograms, the MS, and the MS² spectrum, obtained by HPLC-DAD of the phenolic compounds from parsley (*Petroselinum crispum* cv. 'Flat leaf'), green basil (*Ocimum basilicum* var. *minimum* cv. 'Greek'), and purple basil (*Ocimum basilicum* cv. 'Red Rubin') were the following:



Figure 4 - Chromatogram obtained by HPLC-DAD of the phenolic compounds from parsley (*Petroselinum crispum* cv. 'Flat Leaf').

Figure 5 - Chromatogram obtained by HPLC-DAD of the phenolic compounds from parsley (*Petroselinum crispum* cv. 'Flat Leaf') – Detector responde at 280 nm (mAU)



Figure 6 - Chromatogram obtained by HPLC-DAD of the phenolic compounds from parsley (*Petroselinum crispum* cv. 'Flat Leaf') – Detector responde at 320 nm (mAU)



Figure 7 - Chromatogram obtained by HPLC-DAD of the phenolic compounds from parsley (*Petroselinum crispum* cv. 'Flat Leaf') – Detector responde at 360 nm (mAU)







Peak 3 was identified as *p*-coumaric acid hexoside. It presented the deprotonated molecule $[M - H]^{-}$ at m/z 325, while the MS² spectrum showed a peak at 119 [M - H - hexose - 44]⁻, due to the loss of a hexose moiety and decarboxylation.



p-coumaric acid hexoside



Peak 8 was tentatively identified as gentisic acid derivative or protocatechuic acid derivative. It presented the deprotonated molecule $[M - H]^-$ at m/z 431, and the MS² spectrum showed a peak at m/z 153 (C₇H₆O₄).





Peak 9: Kaempferol 3,7-O- β -D-diglucopiranoside. It showed the deprotonated molecule at m/z 609 [M - H]⁻, MS² fragment ions at m/z 447 [M – H – 162]⁻, due to the loss of a hexose moiety, and at m/z 285 [M – H – 162 – 162]⁻ the aglycone ion kaempferol.



Kaempferol 3,7-O-β-D-diglucopiranoside





Peak 10

• 593: Apigenin 6,8-di-C-glucoside (Vicenin 2)



Apigenin 6,8-di-C-glucoside

• 639: Isorhamnetin-3,7-*O*- β-diglucopiranoside

Peak 10 presented two compounds. The first was identified as apigenin 6,8-di-C-glucoside (Vicenin 2), it had a $[M - H]^-$ at m/z 593, and fragmentation MS² spectrum at m/z 503 $[M - H - 90]^-$, 473 $[M - H - 120]^-$, 383 $[M - H - 90 - 120]^-$, and 353 $[M - H - 120 - 120]^-$. The second was identified as isorhamnetin-3,7-*O*- β -diglucopiranoside, it showed the deprotonated molecule $[M - H]^-$ at m/z 639, and its fragmentation in MS² spectrum gave major peaks at m/z: 477 $[M - H - 162]^-$, corresponding the loss of a hexose, and 315 $[M - H - 162 - 162]^-$.



Peak 11 was identified as isorhamnetin 3-malonylglucoside-7-glucoside. It had a precursor ion at m/z 725, and its fragmentation in MS² spectrum gave major peaks at m/z: 519 [M – H – 162 – CO2]⁻, corresponding the loss of a hexose and
decarboxylation, 476 $[M - H - 162 - 86 - H]^{-}$, due to the loss of a hexose and malonic acid residue; and 315 $[M - H - 162 - 86 - 162]^{-}$.



Peak 12: p-coumaric acid hexoside II





Peak 15 was formed by three compounds. The first one presented the deprotonated molecule $[M - H]^-$ at m/z 563 and fragmentation MS² spectrum at m/z 269 $[M - H - 294]^-$, due to the loss of an apiosylglucoside moiety. The second one showed a base peak at m/z 665, and fragment ions at m/z 621 $[M - H - 44]^-$, due to decarboxylation; at m/z 489 $[M - H - 176]^-$; and at m/z 285 $[M - H - 86 - (132+162)]^-$, due to the loss of apiofuranosyl and glucopiranoside moiety, and the residue of malonic acid. The third one had $[M - H]^-$ at m/z 593, and MS² fragment ions at m/z: 563 $[M - H - 30]^-$, corresponding the loss of two metil radicals, and 299 $[M - H - 294]^-$, due to the apiosylglucoside moiety. These compounds were identified as apigenin 7-apiosylglucoside (apiin), kaempferol-3-O- $[6''-malonyl-\beta-D-apiofuranosyl-(1<math>\rightarrow$ 2)- β -D-glucopiranoside], and diosmetin 7-apiosylglucoside, respectively.

• Apigenin 7-apiosylglucoside (apiin)



Apigenin 7-apiosylglucoside (apiin)



• Kaempferol-3-O-[6^{''}- malonyl- β -D-apiofuranosyl-(1 \rightarrow 2)- β -D-glucopiranoside]









Peak 16 presented two compounds. The first was identified as apigenin 7-glucoside, it had a $[M - H]^-$ at m/z 431, and fragmentation MS² spectrum at m/z 269 [M – H – 162]⁻, due to the loss of a hexose. The second was identified as diosmetin 7-apiosylglucoside II (described above).

• Apigenin 7-glucoside



• Diosmetin 7-apiosylglucoside II





Peak 17 was formed by three compounds. The first presented the deprotonated molecule $[M - H]^-$ at m/z 605 and fragmentation MS² spectrum at m/z 269 $[M - H - 336]^-$, due to the loss of an acetylapiosylglucoside moiety. The second showed a base peak at m/z 649, and fragment ions at m/z 605 $[M - H - 44]^-$, due to decarboxylation, at m/z 563 $[M - H - 86]^-$, at m/z 545 $[M - H - 86 - H_2O]^-$, and at m/z 269 $[M - H - 380]^-$, due to the loss of malonyl-apiosyl-hexoside moiety. The third had $[M - H]^-$ at m/z 461, and MS² fragment ions at m/z: 446 $[M - H - 15]^-$ because of the loss of a metil radical, and 299 $[M - H - 162]^-$, due to the hexose moiety. Therefore, these compounds were identified as apigenin-acetyl-apiosylglucoside (acetylapiin), apigenin-7-malonyl-apyosilglucoside I, and chrysoeriol 7-O-glucoside, respectively.

• Apigenin-acetyl-apiosylglucoside (acetylapiin)





• Apigenin-7-malonyl-apyosilglucoside I



• Chrysoeriol 7-O-glucoside



Peak 18: Apigenin-acetyl-apiosylglucoside (acetylapiin) II





Peak 19 was formed by three compounds. The first was identified as diosmetinacetyl-apiosylglucoside. It presented the deprotonated molecule $[M - H]^-$ at m/z 635 and fragmentation MS² spectrum at m/z 299 $[M - H - 336]^-$, due to the loss of an acetylapiosylglucoside moiety. The second was identified as apigenin-7-malonylapyosilglucoside II, and the third as apigenin-acetyl-apiosylglucoside. These two last compounds were described before.

- Intens. -MS, 32.1min #1891 x10⁴ 3 2 635.1633 1 777.1205 0 200 300 400 500 600 700 800 100 900 m/z
- Diosmetin-acetyl-apiosylglucoside



• Apigenin-7-malonyl-apyosilglucoside II





• Apigenin-acetyl-apiosylglucoside (acetylapiin) III

Peak 20: two compounds were identified. The first was identified as diosmetinacetyl-apiosylglucoside II, commented in peak 19. The second was identified as diosmetin-malonyl-apiosylglucoside, it presented the deprotonated molecule $[M - H]^-$ at m/z 679 and fragmentation MS² spectrum at m/z: 635 $[M - H - 44]^-$, due to decarboxylation; and 299 $[M - H - 380]^-$, due to the loss of a malonylapiosylglucoside moiety.



• Diosmetin-acetyl-apiosylglucoside II and Diosmetin malonyl-apiosylglucoside

Peak 21 was identified as diosmetin-malonyl-apiosylglucoside II. It presented the deprotonated molecule $[M - H]^-$ at m/z 679 and fragmentation MS² spectrum at m/z: 635 $[M - H - 44]^-$, due to decarboxylation; and 299 $[M - H - 380]^-$, due to the loss of a malonylapiosylglucoside moiety.



2.2 Green Basil

Figure 8 - Chromatogram obtained by HPLC-DAD of the phenolic compounds from green basil (*Ocimum basilicum* var. *minimum* cv. 'Greek')



Figure 9 - Chromatogram obtained by HPLC-DAD of the phenolic compounds from from green basil (*Ocimum basilicum* var. *minimum* cv. 'Greek') – Detector responde at 280 nm (mAU)



Figure 10 - Chromatogram obtained by HPLC-DAD of the phenolic compounds from from green basil (*Ocimum basilicum* var. *minimum* cv. 'Greek') – Detector responde at



Figure 11 - Chromatogram obtained by HPLC-DAD of the phenolic compounds from from green basil (*Ocimum basilicum* var. *minimum* cv. 'Greek') – Detector responde at 360 nm (mAU)



Peak 1: Caffeic acid. It presented the deprotonated molecule $[M - H]^-$ at m/z 179, and the MS² spectrum showed a peak at 135 $[M - H - 44]^-$, due to the decarboxylation.







Peak 2: Kaempferol-3-*O*-hexoside. It showed the deprotonated molecule at m/z 447 [M - H]⁻, MS² fragment ions at m/z 285 [M – H – hexose]⁻, and at m/z 163 [M – H – 285 - H]⁻, due to the loss of the aglycone ion kaempferol.



Kaempferol-3-O-hexoside





Peak 3 was formed by three compounds. The first one presented the deprotonated molecule $[M - H]^-$ at m/z 463 and fragmentation MS² spectrum at m/z 300 $[M - H - 162 - H]^-$, due to the loss of a hexose moiety and a hydrgogen in the source. The second one showed a base peak at m/z 593, and fragment ions at m/z 285 $[M - H - 308]^-$, due to the loss of rutinose moiety. The third one had $[M - H]^-$ at m/z 431 and MS² fragment ions at m/z 269 $[M - H - hexose]^-$. In addition, the algycone ion for quercetin, kaempferol, and apigenin is at m/z 301, 285, and 269, respectively. Thus, these compounds were identified as quercetin-3-*O*-hexoside, kaempferol-3-*O*-rutinoside, and apigenin-7-*O*-glucoside, respectively.

• Quercetin-3-O-hexoside





• Kaempferol-3-O-rutinoside



Kaempferol-3-O-rutinoside



• Apigenin-7-O-glucoside





Peak 4 presented two compounds. The first was identified as quercetin-*O*-acetylhexoside, had a $[M - H]^-$ at m/z 505, and fragmentation MS² spectrum at m/z 300 $[M - H - 205]^-$, due to the loss of a acetyl-glucose residue. The second was identified as quercetin 3-O-malonylglucoside, showed the deprotonated molecule $[M - H]^-$ at m/z549, and its fragmentation in MS² spectrum gave peaks at m/z: 505, corresponding to the loss of carboxyl group $[M - H - CO_2]^-$; 387 $[M - H - hexose]^-$, and 300 $[M - H - 249]^-$, due to the loss of a malonyl-glucose residue.

• Quercetin-O-acetyl-hexoside





• Quercetin 3-O-malonylglucoside





Peak 5 was composed by two compounds. Firstly, the molecule at 32.4 min produced a precursor ion at 473 $[M - H]^-$; MS² fragments revealed ions at m/z 301 $[M - H - 162]^-$, due to the loss of caffeic acid; at m/z 179 $[M - H - 294]^-$, because of additional loss of tartaric acid. Moreover, other ions were also noted at m/z 149 $[M - H - 294 - 30]^-$ (tartaric acid), and at m/z 135 $[M - H - 294 - 44]^-$ (decarboxylated caffeic acid). Thus, this compound was identified as chicoric acid. The second molecule produced a precursor ion at m/z 311 $[M - H]^-$, and fragmentation MS² spectrum at m/z 179 $[M - H - 132]^-$ (caffeic acid), at m/z 149 $[M - H - 162]^-$ (tartaric acid), and at m/z 149 $[M - H - 162]^-$ (tartaric acid), and at m/z 135 $[M - H - 162]^-$ (tartaric acid), and at m/z 135 $[M - H - 162]^-$ (tartaric acid), and at m/z 135 $[M - H - 162]^-$ (tartaric acid), and at m/z 135 $[M - H - 162]^-$ (tartaric acid), and at m/z 135 $[M - H - 162]^-$ (tartaric acid), and at m/z 135 $[M - H - 162]^-$ (tartaric acid), and at m/z 135 $[M - H - 162]^-$ (tartaric acid), at m/z 149 $[M - H - 162]^-$ (tartaric acid), and at m/z 135 [M - H - 176], this last one due to the decarboxylation of caffeic acid. Hence, this molecule was identified as caffeoyl tartaric acid.

• Chicoric acid



• Caffeoyl tartaric acid (caftaric acid)





Peak 6 was identified as rosmarinic acid, a caffeic acid ester based on the parent ion at m/z 359 [M – H]⁻, which, through a process of fragmentation, led ions at m/z 179 [M – H – 180]⁻, that expresses a deprotonated caffeic acid, at m/z 161[M – H – 180 – 18]⁻, as a result of the 179 ion prior dehydration, and at m/z 135 [M – H – 180 – 44]⁻, due to the decarboxylation of caffeic acid.



Peak 7 was identified as Ferulic acid, as it presented the deprotonated molecule $[M - H]^-$ at m/z 193, and produced the main fragment ion at m/z 133 $[M - H - CH_3 - CO_2]^-$.



Peak 8 was formed by three compounds: one at 36.6 min, which was identified as eugenol (m/z 163), and its fragmentation in MS² spectrum gave a major peak at m/z 121, as a result of the loss of propenyl radical. Other ions were found at m/z 148 [M – H – CH3]⁻, and at m/z 131 [M – H – CH₃OH]⁻. The second was tentatively identified as santaflavone, according to the precursor ion at m/z 357 and the MS² fragmentation pattern. The last one was identified as caffeoyl feruloyl tartaric acid, in which MS analysis produced a precursor ion at m/z 487 [M – H]⁻, and, in MS² spectrum, two intensive fragments were observed, at m/z 193 [M – H – 294]⁻, and at m/z 179 [M – H – 308]⁻; in the case of 294 Da (132 + 162), due to the loss of tartaric acid and caffeic acid moiety; and in the case of 308 Da (132 + 176), because of a tartaric acid, and a ferulic acid moiety. Other fragments were observed at m/z 161 [M – H – 308 – 18]⁻, which indicates the loss of water of caffeic acid residue; at m/z 149 [M – H – 176 – 162]⁻, and at m/z 135 [M – H – 308 – 44]⁻, due to the decarboxylation of caffeic acid.

• Eugenol







• Santaflavone







Peak 9 was composed by two compounds: First, the molecule at 37.7 min was identified as fertaric acid, an ester of tartaric acid and ferulic acid, based on the precursor ion at 325 $[M - H]^-$, which, when fragmented, managed ions at m/z 193 $[M - H - 132]^-$, that shows a deprotonated ferulic acid, at m/z 178 $[M - H - 132 - 15]^-$, as a result of further radical metil loss, and at m/z 134 $[M - H - 176 - 15]^-$, due to ferulic

acid and metil radical moiety. The second, at 37.9 min, was identified as an isomer of caffeoyl feruloyl tartaric acid.

• Fertaric acid







Peak 12 was identified as luteolin. It showed a precursor ion at m/z 285, and MS² led fragments ions, produced by the loss of Retro Diels Alder (RDA) residue: at m/z 175 [M - H - 110]⁻, resulted from the loss of ^{0,4}B⁻ RDA, and m/z 150 [M - H - 135]⁻, due to the loss of ^{1,3}B⁻ RDA, and at m/z 133 [M - H - 152]⁻, due to the loss of ^{1,3}A⁻ RDA.





Peak 14: Apigenin. It presented the deprotonated molecule $[M - H]^-$ at m/z 269, and the MS² spectrum showed a peak at m/z 150 $[M - H - 119]^-$, because of the loss of A residue, and at m/z 117 $[M - H - 152]^-$, as a result of the loss of B residue and water.







2.3 Purple Basil





Figure 13 - Chromatogram obtained by HPLC-DAD of the phenolic compounds from purple basil (*Ocimum basilicum* cv. 'Red Rubin') – Detector response at 280 nm



Figure 14 - Chromatogram obtained by HPLC-DAD of the phenolic compounds from purple basil (*Ocimum basilicum* cv. 'Red Rubin') – Detector response at 320 nm



Figure 15 - Chromatogram obtained by HPLC-DAD of the phenolic compounds from purple basil (*Ocimum basilicum* cv. 'Red Rubin') – Detector response at 360 nm



Peak 1: Kaempferol-*O*-rhamnosyl-*O*-pentoside I. It presented the deprotonated molecule $[M - H]^-$ at m/z 563, and the MS² spectrum showed a peak at m/z 285 $[M - H - 278]^-$, because of the loss of rhamnosyl-pentoside residue.









Peak 4: Two compounds were identified. Firstly, the molecule at 26.1 min was identified as kaempferol-*O*-rhamnosyl-*O*-pentoside II. Secondly, the molecule at 26.3 min was tentatively identified as eriodictyol hexoside or dihydrokaempferol hexoside, based on the precursor ion at 449 $[M - H]^-$, which, when fragmented, managed ion at m/z 287 $[M - H - 162]^-$, that shows a hexose moiety.



• Kaempferol-O-rhamnosyl-O-pentoside II



• Eriodictyol hexoside or Dihydrokaempferol hexoside

Peak 5: Two compounds were identified. Firstly, the molecule at 28.1 min was identified as quercetin 3-*O*-rutinoside (rutin); it presented the deprotonated molecule [M - H]⁻ at m/z 609, and the MS² spectrum showed a major peak at m/z 301 [M - H - 308]⁻, corresponding to aglycone quercetin, due to the loss of rutinose. The molecule at 28.8 min was tentatively identified as kaempferol-3-*O*-glucosyl-7-*O*-(6"-malonyl)-glucoside, based on the precursor ion at 697 [M – H]⁻, which, when fragmented, managed ions at m/z 449 [M – H – 162 - 86]⁻, due to hexose and malonic acid moiety, and at m/z 287 [M – H – (162 + 86) - 162]⁻.

• Quercetin 3-*O*-rutinoside (rutin)



• Kaempferol-3-O-glucosyl-7-O-(6"-malonyl)-glucoside




Peak 6 was formed by three compounds: the first, at 30 min, was identified as quercetin-3-*O*-hexoside (m/z 463), and its fragmentation in MS² spectrum gave a major peak at m/z 301 [M – H – 162]⁻. The second was tentatively identified as eriodictyol hexoside or dihydrokaempferol hexoside II, previously commented in peak 4. The last one was tentatively identified as eriodictyol or 2-hydroxynaringenin or dihydrokaempferol. The MS analysis produced a precursor ion at m/z 287 [M – H]⁻.



• Quercetin-3-O-hexoside



• Eriodictyol hexoside or dihydrokaempferol hexoside II





• Eriodictyol or 2-hydroxynaringenin or dihydrokaempferol

Peak 7 was formed by three compounds: the first, at 31 min, was identified as kaempferol-3-*O*-hexoside (m/z 447), and its fragmentation in MS² spectrum gave a major peak at m/z 285 [M – H – 162]⁻. The second was tentatively identified as eriodictyol glucuronide (m/z 463), and its fragmentation in MS² spectrum gave a major peak at m/z 287 [M – H – 176]⁻ due to the loss of glucuronic acid residue. The last one was tentatively identified as kaempferol glucuronide or luteolin glucuronide. The MS analysis produced a precursor ion at m/z 461 [M – H]⁻, and fragments at m/z 285 [M – H – 176]⁻, due to the loss of glucuronic acid residue.

• Kaempferol-3-O-hexoside



• Eriodictyol glucuronide





• Kaempferol glucuronide or Luteolin glucuronide



Peak 8 was formed by three compounds. One presented the deprotonated molecule $[M - H]^-$ at m/z 505 and fragmentation MS² spectrum at m/z 301 $[M - H - 204]^-$, due to the loss of an acetyl-hexoside moiety. Another showed a base peak at m/z 549, and fragment ions at m/z 301 $[M - H - 86-162]^-$, due to the loss of a hexose, and the

residue of malonic acid. And other had $[M - H]^{-}$ at m/z 519 and MS² fragment ion at m/z: 357 $[M - H - 162]^{-}$, corresponding to the loss of a hexose. Hence, these compounds were identified as quercetin-*O*-acetylhexoside, quercetin malonyl-hexoside, and pinoresinol-4-*O*-hexoside, respectively.



• Quercetin-O-acetylhexoside and Quercetin malonyl-hexoside

• Pinoresinol-4-O-hexoside



Peak 9 was formed by four compounds. The first one was identified as kaempferol-3-*O*-hexoside II - mentioned above (peak 7). The second one showed a base peak at m/z 473, and the third one had $[M - H]^-$ at m/z 311; these compounds were identified as chicoric acid and caftaric acid, respectively. Furthermore, they were described in basil (Greek) in peak 7. The last compound was identified as taxifolin; it showed a base peak at m/z 303, and with fragment MS² at m/z 151 [M – H – C₆H₆O₂ – C₂H₂O]⁻.

• Kaempferol-3-O-hexoside II



• Chicoric acid





• Caftaric acid





• Taxifolin



Peak 10: In this peak, four compounds were identified. The first as quercetin-*O*-acetylhexoside II, which presented the deprotonated molecule $[M - H]^-$ at m/z 505, commented in peak 8 in details. The second one was identified as eriodictyol-*O*-malonylhexoside I, it showed a base peak at m/z 535, and fragment ions at m/z: 491 [M – H – CO₂]⁻, due to decarboxylation, 287 [M – H – 86 -162]⁻, due to the loss of malonylhexoside moiety. The third one was identified as naringenin, and it had [M – H]⁻ at m/z 271. The last molecule had [M – H]⁻ at m/z 549 and MS² fragment ion at m/z: 387 [M – H – 162]⁻, corresponding to the loss of a hexose; this last compound was identified as hydroxyarctigenin-*O*-hexoside.

• Quercetin-O-acetylhexoside II



• Eriodictyol-O-malonylhexoside I





• Naringenin







• Hydroxyarctigenin-O-hexoside

Peak 11: two compounds were identified in this peak: rosmarinic acid, and apigenin-glucuronide. Rosmarinic acid was discussed in green basil. In the case of apigenin-glucuronide, the parent ion was at m/z 445 [M – H]⁻, and the MS² fragment ion was at m/z 269 [M – H – 176]⁻, as a result of the moiety of glucuronic acid.

• Rosmarinic acid and Apigenin-glucuronide





Peak 12: In this peak, two compounds were identified. The first as ferulic acid, which presented the deprotonated molecule $[M - H]^-$ at m/z 193, and a prominent fragment ion at m/z 133 $[M - H - CH_3 - CO_2]^-$. The second one was identified as eriodictyol-*O*-malonylhexoside II, and it was commented in peak 10.



• Ferulic acid



• Eriodictyol-O-malonylhexoside II



Peak 13: Four compounds were identified: eugenol, santaflavone, naringenin-O-malonylhexoside, and an isomer of naringenin. The first two were discussed in basil (peak 10). Naringenin-O-malonylhexoside (m/z 519), at 37 min, showed at MS²

spectrum a major peak at m/z 271 [M – H – 86 -162]⁻, because of the loss of malonic acid residue and a hexose.



• Eugenol

• Santaflavone





• Naringenin-O-malonylhexoside



• Naringenin II



Peak 16: Methyl rosmarinate (m/z 373)





Peak 18: Three compounds were tentatively identified: kaempferol (m/z 285), eriodictyol or 2-hydroxynaringenin or dihydrokaempferol II (m/z 287), and santaflavone II (m/z 357).



• Kaempferol



• Eriodictyol or 2- Hydroxynaringenin or Dihydrokaempferol II



• Santaflavone II



3. Anthocyanins in purple basil

The chromatograms, the MS, and the MS² spectrum, obtained by HPLC-DAD of the anthocyanins from purple basil (*Ocimum basilicum* cv. 'Red Rubin') were the following:

Figure 13 - Chromatogram obtained by HPLC-DAD of the anthocyanins from purple basil (*Ocimum basilicum* cv. 'Red Rubin') – Detector response at 520 nm



Peak 1 was tentatively identified as cyanidin 3,5-diglucoside. The MS data showed the molecular ion $[M]^+$ at m/z 611, and the MS² showed the following fragments m/z 449 [M - 162]⁺, and 287 [M - 324]⁺, which corresponds to the aglycone cyanidin, due to the loss of a hexose-hexose.



Peak 2 was identified as cyanidin 3-(malonyl)-glucoside-5-glucoside. It had a $[M]^+$ at m/z 697, and the MS² showed fragments at m/z 535 $[M - 162]^+$, due to the loss of a hexose, at m/z 449 $[M - 86 - 162]^+$, due to the loss of malonic acid residue and hexose, and at 287 $[M - 410]^+$ which corresponds to the aglycone cyanidin.





Peak 3 was tentatively identified as cyanidin succinyl diglucoside I. The mass spectrum showed a $[M]^+$ at m/z 711, and the MS² showed fragments at m/z 449 $[M - 100 - 162]^+$, due to the loss of succinic acid residue and hexose, and at 287 $[M - (100 + 162) - 162]^+$, which corresponds to the aglycone cyanidin.



Peak 4 was formed by cyanidin and deplhinidin derivatives. One molecule was identified as cyanidin 3-(*p*-coumaroyl-6'caffeoyl) sophoroside, and it showed a $[M]^+$ at m/z 919, and the MS² showed fragments at m/z 757 $[M - 162]^+$, at m/z 449 $[M - 146 - 324]^+$, due to the loss of cumaric acid residue and sophorose, and at 287 $[M - 632]^+$, which corresponds to the aglycone cyanidin.



Peak 5: two compounds were identified. One as cyanidin 3-hexoside I ($[M]^+$ at m/z 449, and MS² at m/z 287 [M - 162]⁺), and another as cyanidin-3-(*p*-coumaroyl-glucoside) ($[M]^+$ at m/z 595, and MS² at m/z 287 [M - 146 - 162]⁺, corresponding to the loss of cumaric acid residue and a hexose).

• Cyanidin 3-hexoside I



205



Peak 6 was formed by four compounds, all cyanidin derivatives. Two of them were described above (isomers of cyanidin 3-(*p*-coumaroyl-6'caffeoyl) sophoroside, and cyanidin 3-hexoside). One molecule was identified as cyanidin 3-(caffeoyl) diglucoside-5-glucoside. It showed a $[M]^+$ at m/z 935, and the MS² showed fragments at m/z 773 $[M - 162]^+$, at m/z 449 $[M - 162 - 162 - 162]^+$, due to the loss of caffeic acid residue, and hexose-hexose moiety, and at m/z 287 $[M - 648]^+$, which corresponds to the aglycone cyanidin.



• Cyanidin 3-(caffeoyl) diglucoside-5-glucoside



• Cyanidin 3-(p-coumaroyl-6'caffeoyl) sophoroside II



• Cyanidin 3-hexoside



Peak 7: Four compounds were identified in this peak. The first was identified as cyanidin malonoyl glucoside, it showed a $[M]^+$ at m/z 535, and the MS² showed a fragment at m/z 287 $[M - 86 - 162]^+$, due to the loss of malonic acid residue and a hexose moiety. The second was a cyanidin derivative. The third was identified as peonidin 3-caffeoyl-rutinoside5-glucoside, which showed a $[M]^+$ at m/z 933, and the MS² showed fragments at m/z: 771 $[M - hexose]^+$, 463 $[M - 162 - 308]^+$, due to the loss of caffeic acid residue, and a rutinose moiety, and 301 $[M - 632]^+$, which corresponds to the aglycone peonidin. The last one was identified as delphinidin 3-hexoside, its MS spectra showed a $[M]^+$ at m/z 465, and the MS² showed a fragment at m/z 303 $[M - 162]^+$, which corresponds to the aglycone delphinidin.

• Cyanidin malonoyl glucoside



• Peonidin 3-caffeoyl-rutinoside5-glucoside





• Delphinidin 3-hexoside



Peak 9: Three compounds were identified in this peak. The first was an isomer of cyanidin 3-hexoside. The second was identified as cyanidin-3-*O*-glucuronide, it showed a $[M]^+$ at m/z 463, and the MS² showed a fragment at m/z 287 $[M - 176]^+$, due to the loss of glucuronic acid residue. The third was identified as cyanidin 3-glucoside

5-caffeoylglucoside, it showed a $[M]^+$ at m/z 773, and the MS² showed fragments at m/z: 449 $[M - 324]^+$, due to the loss of caffeic acid residue and a hexose moiety, and 287 $[M - 486]^+$, which corresponds to the aglycone cyanidin.



• Cyanidin-3-O-glucuronide

• Cyanidin 3-glucoside 5-caffeoylglucoside





Peak 10: Six compounds were identified in this peak. The first was identified as delphinidin-3-*O*-rutinoside, it showed a $[M]^+$ at m/z 611, and the MS² showed a fragment at m/z 303 $[M - 308]^+$, due to a rutinose moiety; the second was a malvidin derivative; the third was an isomer of delphinidin 3-hexoside; the fourth was a delphinidin derivative; the fifth as delphinidin 3-(malonyl) glucoside, which showed a $[M]^+$ at m/z 551, and the MS² showed fragments at m/z: 303 $[M - 86 - 162]^+$, due to the loss of malonic acid residue and a hexose moiety; and the last one was identified as cyanidin 3-(*p*-coumaroylglucoside)-5-glucoside. Its MS spectra showed a $[M]^+$ at m/z 757, and the MS² showed a fragment at m/z 287 $[M - 146 - 162 - 162]^+$, which corresponds to the aglycone cyanidin.

- 500 200 300 400 600 Wavelength [nm] Intens. +MS, 17.1min #1010 611.1569 6000 -5000 -4000 -3000 2000 -161.0133 257.0620 755.1517 1000 -0. 200 600 100 300 400 500 700 800 900 m/z
- Delphinidin-3-O-rutinoside



• Delphinidin 3-(malonyl) glucoside and Cyanidin 3-(p-coumaroylglucoside)-5-





Peak 11: Three compounds were found in this peak. The first one was a cyanidin derivative. The second one was identified as pelargonidin 3-glucoside, it showed a $[M]^+$ at m/z 433, and the MS² showed a fragment at m/z 271 $[M - hexose]^+$. The third one was identified as cyanidin 3-*O*-(p-coumaroyl) glucoside-5-*O*-malonylglucoside, it showed a $[M]^+$ at m/z 843, and the MS² showed a fragment at m/z 287 $[M - 146 - 162 - 86 - 162]^+$, which corresponds to the aglycone cyanidin.



• Pelargonidin 3-glucoside



Peak 12: Two compounds were found in this peak. The first one was identified as pelargonidin 3-glucuronide, it showed a $[M]^+$ at m/z 447, and the MS² showed a fragment at m/z 271 $[M - 176]^+$. The second one was an isomer of the cyanidin 3-*O*-(p-coumaroyl)glucoside-5-*O*-malonylglucoside, reported in peak 11.



• Pelargonidin 3-glucuronide

Peak 13: Four compounds were found in this peak. The first and the second one were delphinidin and cyanidin derivatives. The third was identified as peonidin 3-glucuronide, it showed a $[M]^+$ at m/z 477, and the MS² showed a fragment at m/z 301 $[M - 176]^+$. The last compound was identified as cyanidin 3-rutinoside, it showed a $[M]^+$ at m/z 595, and the MS² showed a fragment at m/z 287 $[M - 308]^+$.








• Cyanidin 3-rutinoside



Peak 14: In this peak, three compounds were identified. The first one was an isomer of peonidin 3-glucuronide (peak 13); the second one was tentatively identified as pelargonidin 3-(malonoyl)glucoside, it showed a $[M]^+$ at m/z 519, and the MS² showed a fragment at m/z 271 $[M - 86 - 162]^+$; the last one was identified as cyanidin 3-(6^{''-} succinyl) glucoside, it showed a $[M]^+$ at m/z 549, and the MS² showed a fragment at m/z 287 $[M - 100 - 162]^+$.

• Pelargonidin 3-(malonoyl)glucoside





• Cyanidin 3-(6⁻⁻succinyl) glucoside



CAPÍTULO 4 – DISCUSSÃO GERAL E CONCLUSSÃO

DISCUSSÃO GERAL

Este trabalho, conforme já relatado, foi desenvolvido com o objetivo de avaliar o comportamento de três plantas – salsa (*Petroselinum crispum* 'Lisa Stella'), manjericão verde (*Ocimum basilicum* var. *minimum* cv. 'Grecco a Palla') e manjericão roxo (*Ocimum basilicum* cv. 'Vermelho Rubi') – em meio a três diferentes sistemas de cultivo (*indoor*, vaso em estufa e campo aberto orgânico), especialmente em relação à qualidade e à quantidade de compostos bioativos.

Em termos de desenvolvimento, as plantas estudadas apresentaram os seguintes resultados: as plantas de salsa tiveram o maior índice de área foliar no cultivo indoor. Entretanto, no sistema indoor, as plantas não apresentaram uma aparência própria da espécie, com folhas muito maiores e desproporcionais entre elas; a morfologia do limbo foliar também diferiu das características típicas da espécie. Por outro lado, nos outros dois sistemas de cultivo, a morfologia das plantas de salsa seguiu o padrão da espécie. Os maiores índices de área foliar das plantas de manjerição verde e roxo foram indoor observadas sistema e na estufa, no respectivamente. Sobre а desproporcionalidade de tamanho das folhas, esta também ocorreu nos dois tipos de manjericões no cultivo indoor. Isso pode ter ocorrido devido à necessidade das plantas (no sistema indoor) de captarem mais luz e ter acontecido um fenômeno de fuga ao sombreamento na câmara.

Por outro lado, a média do peso seco das raízes das plantas de salsa cultivadas na estufa foi menor do que os valores encontrados nos outros dois sistemas de cultivo. Os maiores valores de peso seco dos caules e das raízes das plantas de manjerição verde se deram no campo. No manjerição roxo, o peso seco de folhas e caules das plantas cultivadas no campo e na estufa foram maiores quando comparados aos valores do sistema *indoor*. Em relação ao peso seco das raízes, o maior valor encontrado foi no campo. Finalmente, as três espécies de plantas tiveram sua maior produtividade no sistema *indoor*.

Os resultados indicaram que as plantas de salsa cultivadas no sistema *indoor* apresentaram um teor total de clorofila 1,25 e 1,7 vezes superior ao valor encontrado na estufa e no campo, respectivamente. No caso do manjericão verde, os valores não mostraram diferença significativa entre todos os sistemas de cultivo; porém, no caso do manjericão roxo cultivado no campo, o teor de clorofila mostrou diferença significativa (p < 0,05) em relação ao valor do sistema *indoor*.

Em todas as plantas estudadas, o teor de ácido ascórbico foi avaliado, sendo que a salsa cultivada no campo apresentou um teor (peso seco) 3 vezes maior do que o valor encontrado no sistema *indoor* e 5 vezes maior do que o cultivo em estufa. Os manjericões verde e roxo apresentaram o maior teor de vitamina C (peso fresco) na estufa.

Os resultados de carotenoides, compostos fenólicos e antocianinas tiveram o mesmo perfil em cada amostra estudada (nas três plantas) em todos os sistemas de cultivo. Os principais carotenoides que se destacaram nas três plantas foram o β -caroteno e a luteína. A salsa e o manjericão verde tiveram seu maior conteúdo de carotenoides totais no sistema *indoor*. Na salsa, o valor de β -caroteno do sistema *indoor* foi 22 - 30 % maior que o encontrado em estufa e campo, respectivamente. No sistema *indoor*, o conteúdo de β -caroteno e de luteína no manjericão verde foi de aproximadamente 2,4 e 1,6 vezes superior aos valores encontrados nos outros dois cultivos, respectivamente. Já o conteúdo total de carotenoides no manjericão roxo se destacou na estufa, sendo que o teor de β -caroteno na estufa não diferiu significativamente do valor encontrado no sistema *indoor*. Ambos os valores foram 23 % mais elevados do que o valor encontrado no manjericão do campo. Entretanto, o conteúdo de luteína se destacou no campo e correspondeu a 10 - 31% a mais do que os conteúdos encontrados nos sistemas *indoor* e estufa, respectivamente.

Em relação aos compostos fenólicos, a salsa demonstrou ser uma rica fonte de flavonoides. Alguns dos compostos majoritários encontrados nesta erva foram a apigenina-7-apiosilglucósido (apiina), a apigenina-malonil-apiosilglucósido (malonil-apiina) e a apigenina-acetil-apiosilglucósido (acetil-apiina). No caso dos manjericões verde e roxo, a maior concentração de fenólicos totais foi encontrada nas plantas cultivadas no campo. Estas ervas mostraram ser ricas fontes de ácidos fenólicos (ácidos cafeico, chicórico, caftárico, rosmarínico e ferúlico) e flavonoides (principalmente flavonóis e flavonas e alguns flavanonas e flavanonóis). Para ambos cultivares, o ácido rosmarínico foi o principal composto fenólico em todos os sistemas de cultivo.

Nas amostras de manjerição roxo, as antocianinas também foram avaliadas. A concentração mais elevada de antocianinas totais foi encontrada nas plantas cultivadas no campo. Os resultados mostraram que a maioria das antocianinas encontradas são derivadas da aglicona cianidina, sendo algumas aciladas (principalmente com ácido pcumárico, cafeico e malônico) e glicosiladas. Além disso, foram encontradas outras antocianinas com agliconas diferentes, como delfinidina, peonidina, pelargonidina e malvidina.

Existem estudos que evidenciam funções de promoção da saúde por parte dos compostos bioativos. Para citar alguns exemplos, o β-caroteno, além de ser conhecido por ter propriedades antioxidantes, é um carotenoide com atividade pro vitamínica A, e a luteína, assim como a zeaxantina, são carotenoides importantes que ajudam na manutenção da saúde ocular (MEYERS et al., 2013; SCHWARTZ; ELBE; GIUSTI, 2010). No caso dos ácidos fenólicos, um estudo sobre o ácido chicórico mostrou seu potencial como efeito antiobesidade, por meio da atenuação da resistência à insulina, e do fortalecimento do sistema de defesa antioxidante, além de outros fatores (XIAO et al., 2013). Por sua vez, o ácido rosmarínico encontra-se associado a várias propriedades benéficas, como antioxidante, antiinflamatório, neuroprotetor, antibacteriano, antiviral, e antiangiogênico (ELUFIOYE; HABTEMARIAM, 2019; PETERSEN; SIMMONDS, 2003). Desta maneira, as ervas, além de poderem ser utilizadas como tempero para realçar o sabor das preparações alimentares, também são benéficas à saúde.

Em relação à atividade antioxidante, os extratos obtidos das folhas de salsa no campo foram capazes de eliminar o radical ABTS com um valor 1,4 vezes maior que o encontrado para as amostras do sistema *indoor* e estufa. Os extratos obtidos das folhas de manjerição verde do campo foram capazes de captar o radical ABTS com um valor 1,4 vezes maior que as amostras da estufa e 2,3 vezes maior que o valor do sistema *indoor*. O mesmo comportamento ocorreu no manjerição roxo, onde as amostras do campo se destacaram pela sua capacidade de eliminação.

Cada erva contém diferentes compostos bioativos e cada um deles aporta para a capacidade antioxidante de seus extratos, o que indica que elas são uma fonte eficaz de antioxidantes naturais. Assim, as ervas estudadas, enquanto alimento, podem ser consideradas benéficas à saúde.

CONCLUSÃO

Os resultados das análises das três plantas nos três sistemas de cultivo analisados permitiram concluir que:

- a) As plantas de salsa e manjerição verde tiveram o maior índice de área foliar no cultivo *indoor*. No caso do manjerição roxo, o maior índice de área foliar foi encontrado na estufa.
- b) No sistema *indoor* as plantas de salsa não apresentaram uma aparência própria da espécie, com folhas muito maiores e desproporcionais do que o usual. A morfologia do limbo das folhas diferiu das características típicas da espécie. Também houve desproporcionalidade de tamanho das folhas no cultivo *indoor*, nos dois tipos de manjericões.
- c) A média do peso seco das raízes das plantas de salsa cultivadas na estufa foram menores em relação aos valores encontrados nos outros dois sistemas de cultivo. Os maiores valores de peso seco dos caules e das raízes das plantas de manjerição verde ocorreram no campo. No caso do manjerição roxo, o peso seco de suas folhas e caules cultivadas no campo e na estufa foram maiores que os valores do sistema *indoor*. Em relação ao peso seco das raízes, o maior valor foi encontrado no campo.
- d) As 3 plantas tiveram sua maior produtividade no sistema *indoor*.
- e) O teor de clorofila total foi maior no cultivo *indoor* para as amostras de salsa e manjerição verde, sendo que, nesta última, não houve diferença significativa em relação aos outros sistemas de cultivo; no caso do manjerição roxo, o maior valor observado foi no campo.
- f) As amostras de salsa cultivadas no campo apresentaram um alto conteúdo de vitamina C.
- g) O conteúdo de carotenoides nas amostras de salsa e manjericão verde foi maior no sistema de cultivo *indoor* e, para o manjericão roxo, foi maior na estufa.
- h) O maior teor de compostos fenólicos totais na salsa foi encontrado na estufa; já no caso dos dois manjericões, o maior valor esteve no campo.
- A maioria dos compostos fenólicos majoritários da salsa tem como base a apigenina.

- j) O composto fenólico encontrado em maior quantidade para ambas cultivares de manjericão foi o ácido rosmarínico.
- k) As amostras de manjerição roxo cultivadas no campo apresentaram o maior teor de antocianinas totais.
- A maioria das antocianinas encontradas são derivadas da aglicona cianidina, encontrando-se aciladas e glicosiladas.
- m) A atividade antioxidante dos extratos das folhas das três plantas cultivadas no campo (cultivo orgânico) tiveram o maior potencial de eliminação do radical ABTS.

De maneira geral, a partir dos resultados obtidos, as três ervas estudadas mostraram ser ricas em compostos bioativos. Tais compostos representam uma fonte potencial de antioxidantes naturais. Também observou-se que a intensidade e a qualidade da luz de diferentes ambientes de cultivo afetam a qualidade e a quantidade dos compostos das plantas. Finalmente, os resultados indicaram que o sistema *indoor* forneceu condições suficientes para a formação de compostos bioativos, também encontrados nos outros sistemas de cultivo (estufa e campo). Sobretudo, foi possível notar que o campo, entre os três sistemas de cultivo, foi o ambiente que proporcionou às plantas estudadas, por meio de sua síntese de compostos bioativos, a maior capacidade antioxidante.

REFERÊNCIAS

ALJANABY, A. A. J. J. Antibacterial activity of an aqueous extract of Petroselinum crispum leaves against pathogenic bacteria isolated from patients with burns infections in Al-najaf Governorate, Iraq. **Research on Chemical Intermediates**, v. 39, n. 8, p. 3709–3714, 2013.

ALMEIDA, A. S. DE et al. **Produção orgânica de hortaliças: o produtor pergunta, a Embrapa responde**. 1. ed. Brasília, DF: Embrapa Informação Tecnológica, 2007.

AMAZING HERB GARDEN. **How to grow basil - Information guide**. Disponível em: https://amazingherbgarden.com/how-to-grow-basil/>. Acesso em: 12 set. 2019.

AZEEZ, S.; PARTHASARATHY, V. A. Parsley. In: PARTHASARATHY, V.; CHEMPAKAM, B.; ZACHARIAH, T. J. (Eds.). . Chemistry of spices. 1. ed. Wallingford: CABI, 2008. p. 376–400.

BATISTA, M. A. et al. Carotenos e provitamina A em bertalha e ervas aromáticas comercializadas em Viçosa, Estado de Minas Gerais, durante as quatro estações do ano. Acta Scientiarum. Health Sciences., v. 28, n. 1, p. 93–100, 2006.

BECATTI, E. et al. Short-term postharvest carbon dioxide treatments induce selective molecular and metabolic changes in grape berries. Journal of Agricultural and Food Chemistry, v. 58, n. 13, p. 8012–8020, 2010.

BENÍTEZ, G.; GONZÁLEZ-TEJERO, M. R.; MOLERO-MESA, J. Pharmaceutical ethnobotany in the western part of Granada province (southern Spain): Ethnopharmacological synthesis. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 129, n. 1, p. 87–105, 2010.

BRECHT, J. K. et al. Fisiologia Pós-Colheita de Tecidos Vegetais Comestíveis. In: DAMODARAN, S.; PARKIN, K. L.; FENNEMA, O. R. (Eds.). . Química de Alimentos de Fennema. 4. ed. Porto Alegre: Artmed, 2010. p. 759–817.

BRITO, L. M. **Relações empíricas entre o crescimento das culturas e ambientais.** Disponível em: http://www.ci.esapl.pt/miguelbrito/fisiologia/page35.html). Acesso em: 25 jun. 2018.

BUONOCORE, G.; PERRONE, S.; TATARANNO, M. L. Oxygen toxicity: chemistry and biology of reactive oxygen species. Seminars in Fetal and Neonatal Medicine, v. 15, n. 4, p. 186–190, 2010.

CARNEIRO, J. G. A. DE. Técnicas que afetam o desenvolvimento de mudas -Substrato. In: CARNEIRO, J. G. A. DE (Ed.). . **Produção e controle de qualidade de mudas florestais**. 1. ed. Curitiba: UFPR/Fupef, 1995. p. 248–308.

CAROCHO, M.; FERREIRA, I. C. F. R. A review on antioxidants, prooxidants and related controversy: Natural and synthetic compounds, screening and analysis methodologies and future perspectives. **Food and Chemical Toxicology**, v. 51, n. 1, p. 15–25, 2013.

CHARLES, D. J. Parsley. In: PETER, K. V. (Ed.). . Handbook of Herbs and Spices. 2. ed. Cambridge: Woodhead Publishing Limited, 2012. p. 430–451.

CHAVES, D. S. A. et al. Phenolic Chemical Composition of Petroselinum crispum Extract and Its Effect on Haemostasis. **Natural Product Communications**, v. 6, n. 7, p. 961–964, 2011.

CROZIER, A.; JAGANATH, I. B.; CLIFFORD, M. N. Dietary phenolics: chemistry, bioavailability and effects on health. **Natural Product Reports**, v. 26, n. 8, p. 1001, 2009.

DALY, T. et al. Carotenoid content of commonly consumed herbs and assessment of their Bioaccessibility using an In Vitro digestion model. **Plant Foods for Human Nutrition**, v. 65, n. 2, p. 164–169, 2010.

DZIEDZIC, S. Z.; HUDSON, B. J. F. Phenolic Acids and Related Compounds as Antioxidants for Edible Oils. **Food Chemistry**, v. 14, p. 45–51, 1984.

ELUFIOYE, T. O.; HABTEMARIAM, S. Hepatoprotective effects of rosmarinic acid: Insight into its mechanisms of action. **Biomedicine and Pharmacotherapy**, v. 112, n. July 2018, 2019.

EMBRAPA. **Prosa Rural - Vantagens do cultivo protegido de hortaliças**. Disponível em: https://www.embrapa.br/busca-de-noticias/-/noticia/6535691/prosa-rural---vantagens-do-cultivo-protegido-de-hortalicas. Acesso em: 17 maio. 2018.

EMBUSCADO, M. E. Spices and herbs: Natural sources of antioxidants - a mini review. Journal of Functional Foods, v. 18, p. 811–819, 2015.

FAÇANHA, A. R.; CANELLAS, L. P.; DOBBSS, L. B. Nutrição Mineral. In: KERBAUY, G. B. (Ed.). . **Fisiologia Vegetal**. 2. ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan LTDA, 2008. p. 33–50.

FARZAEI, M. H. et al. Parsley: a review of ethnopharmacology, phytochemistry and biological activities. **Journal of Traditional Chinese Medicine**, v. 33, n. 6, p. 815–826, 2013.

FERNÁNDEZ LÓPEZ, J.; PÉREZ ALVAREZ, J. Á.; VIUDA MARTOS, M. Beneficial health effects of bioactive compounds present in spices and aromatic herbs. In: PÉREZ-ALVAREZ, J. A. et al. (Eds.). . **Studies in Natural Products Chemistry**. Karachi: Elsevier, 2012. v. 37p. 115–134.

FLANIGAN, P. M.; NIEMEYER, E. D. Effect of cultivar on phenolic levels, anthocyanin composition, and antioxidant properties in purple basil (Ocimum basilicum L.). **Food Chemistry**, v. 164, p. 518–526, 2014.

FOOTE, C. S.; DENNY, R. W. Chemistry of Singlet Oxygen. VII. Quenching by β -Carotene. Journal of the American Chemical Society, v. 90, n. 22, p. 6233–6235, 1968.

FRANKLIN, K. A. et al. Interaction of light and temperature signallingJournal of Experimental Botany, 2014.

FREITAS, E. R. DE. Agricultura Ecológica: Conceituação. Disponível em: http://www.iea.sp.gov.br/out/verTexto.php?codTexto=444>. Acesso em: 20 jun. 2018.

GOODWIN, T. Nature and Properties. In: GOODWIN, T. (Ed.). . The Biochemistry of the Carotenoids: Volume I Plants. 2. ed. New York: Chapman and Hall, 1980. p. 1–32.

GROSS, J. Carotenoids. In: GROSS, J. (Ed.). . **Pigments in Vegetables:** Chlorophylls and Carotenoids. 1. ed. New York: Springer US, 1991. p. 75–278.

GUINÉ, R. P. F.; GONÇALVES, F. J. Chemistry and health effects of bioactive compounds in selected culinary aromatic herbs. **Current Nutrition & Food Science**, v. 11, n. 2, p. 145–164, 2015.

HALLIWELL, B. How To Characterize a Biological Antioxidant. Free Radical Research Communications, v. 9, n. I, p. 1–32, 1990.

HALLIWELL, B. Free radicals, antioxidants, and human disease: curiosity, cause, or consequence? **The Lancet**, v. 344, n. 8924, p. 721–724, 1994.

HALLIWELL, B.; GUTTERIDGE, J. M. C. Antioxidant defences synthesized in vivo. In: BARRY HALLIWELL, J. M. C. G. (Ed.). . Free Radicals in Biology and Medicine. 5. ed. Oxford: Oxford University Press, 2015. p. 896.

HASAN, M. M. et al. An overview of LEDs' effects on the production of bioactive compounds and crop quality. **Molecules**, v. 22, n. 9, p. 1–12, 2017.

HELIOSPECTRA. Which regions of the electromagnetic spectrum do plantsusetodrivephotosynthesis?Disponívelem:<https://www.heliospectra.com/sites/default/files/general/What</td>lightdoplantsneed_5.pdf>. Acesso em: 25 jun. 2018.

HERRERA, E.; BARBAS, C. Vitamin E: action, metabolism and perspectives. **Journal of Physiology and Biochemistry**, v. 57, n. 1, p. 43–56, 2001.

HINNEBURG, I.; DORMAN, H. J. D.; HILTUNEN, R. Antioxidant activities of extracts from selected culinary herbs and spices. **Food Chemistry**, v. 97, n. 1, p. 122–129, 2006.

HUBER, L. S.; HOFFMANN-RIBANI, R.; RODRIGUEZ-AMAYA, D. B. Quantitative variation in Brazilian vegetable sources of flavonols and flavones. **Food Chemistry**, v. 113, n. 4, p. 1278–1282, 2009.

KOPSELL, D. A.; KOPSELL, D. E.; CURRAN-CELENTANO, J. Carotenoid and chlorophyll pigments in sweet basil grown in the field and greenhouse. **HortScience**, v. 40, n. 5, p. 1230–1233, 2005.

KWEE, E. M.; NIEMEYER, E. D. Variations in phenolic composition and antioxidant properties among 15 basil (Ocimum basilicum L.) cultivars. Food Chemistry, v. 128, n. 4, p. 1044–1050, 2011.

LARIBI, B. et al. Coriander (Coriandrum sativum L.) and its bioactive constituents. Fitoterapia, v. 103, p. 9–26, 2015.

LEAHU, A. et al. Variation in content of antioxidant and free radical scavenging activity of basil (Ocimum Basicilicum), dill (Anethum graveolens) and parsley (Petroselinum sativum). **Food and Environment Safety**, v. XII, n. 4, p. 347–353, 2013.

LEE, J.; SCAGEL, C. F. Chicoric acid found in basil (Ocimum basilicum L.) leaves. **Food Chemistry**, v. 115, n. 2, p. 650–656, 2009.

LEOPOLDINI, M.; RUSSO, N.; TOSCANO, M. The molecular basis of working mechanism of natural polyphenolic antioxidants. **Food Chemistry**, v. 125, n. 2, p. 288–306, 2011.

LU, Y. et al. Characterisation of organic and conventional sweet basil leaves using chromatographic and flow-injection mass spectrometric (FIMS) fingerprints combined with principal component analysis. **Food Chemistry**, v. 154, p. 262–268, 2014.

MACHLIN, L. J. Free radical tissue damage and protective role of antioxidant nutrients.Brody Memorial Lecture XX. Nutley: [s.n.].

MATREW, Z. **Herb & Spice**. Disponível em: <https://herbspice.guide/freshand-mild-herbs/parsley-petroselinum-crispum/>. Acesso em: 15 abr. 2018.

MERCADANTE, A. Z.; RODRIGUEZ-AMAYA, D. B. Effects of ripening, cultivar differences, and processing on the carotenoid composition of mango. Journal of Agricultural and Food Chemistry, v. 46, n. 1, p. 128–130, 1998.

MEYERS, K. J. et al. Genetic evidence for role of carotenoids in age-related macular degeneration in the carotenoids in age-related eye disease study (CAREDS). **Investigative Ophthalmology and Visual Science**, v. 55, n. 1, p. 587–599, 2013.

MORALES, M. R.; CHARLES, D. J.; SIMON, J. E. New Aromatic Lemon Basil Germplasm. In: JANICK, J.; SIMON, J. E. (Eds.). . **New crops**. New York: Wiley, 1993. p. 632–635.

MUCHUWETI, M. et al. Phenolic composition and antioxidant properties of some spices. **American Journal of Food Technology**, v. 2, n. 5, p. 414–420, 2007.

NEPA-UNICAMP. **Tabela brasileira de composição de alimentos - TACO**. Disponível em: http://www.cfn.org.br/wp-content/uploads/2017/03/taco_4_edicao_ampliada_e_revisada.pdf>. Acesso em: 27 abr. 2018.

NEWBEAN CAPITAL. Indoor Crop Production Feeding the Future. [s.l: s.n.].

NEWELL-MC CLOUGHLIN, M. Impacto da Biotecnologia sobre o Suprimento e a Qualidade dos Alimentos. In: DAMODARAN, S.; PARKIN, K. L.; FENNEMA, O. R. (Eds.). . **Química de Alimentos de Fennema**. 4. ed. Porto Alegre: Artmed, 2010. p. 819–858.

NICULA, C.; BUIE, A.; BRAN, O. Accumulation of chlorophyll and carotenoids pigmnets in plants grown under artificial light. **Carpathian Journal of Food Science and Technology**, v. 4, n. 1, p. 37–45, 2012.

NINFALI, P. et al. Antioxidant capacity of vegetables, spices and dressings relevant to nutrition. **British Journal of Nutrition**, v. 93, n. 02, p. 257–266, 2005.

NOUR, V.; TRANDAFIR, I.; COSMULESCU, S. Bioactive compounds, antioxidant activity and nutritional quality of different culinary aromatic herbs. **Notulae Botanicae Horti Agrobotanici Cluj-Napoca**, v. 45, n. 1, p. 179–184, 2017.

OPARA, E. I.; CHOHAN, M. Culinary herbs and spices: Their bioactive properties, the contribution of polyphenols and the challenges in deducing their true health benefits. **International Journal of Molecular Sciences**, v. 15, n. 10, p. 19183–19202, 2014.

PETERSEN, M.; SIMMONDS, M. S. J. Rosmarinic acid. **Phytochemistry**, v. 62, n. 2, p. 121–125, 2003.

PIMENTA, J. A. Relações Hídricas. In: KERBAUY, G. B. (Ed.). . **Fisiologia Vegetal**. 2. ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan LTDA, 2008. p. 1–32.

PIMENTEL, D. et al. Environmental, Energetic, and Economic Comparisons of Organic and Conventional Farming Systems. **BioScience**, v. 55, n. 7, p. 573–582, 2005.

POLITEO, O.; JUKIC, M.; MILOS, M. Chemical composition and antioxidant capacity of free volatile aglycones from basil (Ocimum basilicum L.) compared with its essential oil. **Food Chemistry**, v. 101, n. 1, p. 379–385, 2007.

POLJSAK, B.; ŠUPUT, D.; MILISAV, I. Achieving the balance between ROS and Antioxidants: when to use the synthetic antioxidants. **Oxidative medicine and cellular longevity**, v. 2013, 2013.

PUSHPANGADAN, P.; GEORGE, V. Basil. In: PETER, K. V. (Ed.). . Handbook of Herbs and Spices. 2. ed. Cambridge: Woodhead Publishing Limited, 2012. p. 55–72.

RAJENDRAN, P. et al. Antioxidants and human diseases. Clinica Chimica Acta, v. 436, p. 332–347, 2014.

RAMOS GONZALÍAS, Y.; RAMÍREZ LASSO, E. Desarrollo de un sistema de iluminación artificial LED para cultivos en interiores - Vertical Farming (VF). **Informador técnico**, v. 80, n. 2, p. 111–120, 2016.

RE, R. et al. Antioxidant activity applying an improved ABTS radical cation decolorization assay. **Free Radical Biology and Medicine**, v. 26, n. 9–10, p. 1231–1237, 1999.

REHECHO, S. et al. Ethnopharmacological survey of medicinal plants in Nor-Yauyos, a part of the Landscape Reserve Nor-Yauyos-Cochas, Peru. Journal of Ethnopharmacology, v. 133, n. 1, p. 75–85, 2011.

REIS, N. V. B. DOS. Construção de estufas para produção de hortaliças nas regiões Norte, Nordeste e Centro-Oeste. Brasília, DF: Embrapa Hortaliças, 2005. v. 38

RESENDE, S. A. A.; JÚNIOR, J. C. DE R. Cultivo orgânico: origem, evolução e importância socieconômica e ambiental. Enciclopédia Biosfera, Centro científico conhecer, v. 7, n. 13, p. 1119–1127, 2011.

RODRIGUES, E.; MARIUTTI, L. R. B.; MERCADANTE, A. Z. Carotenoids and phenolic compounds from Solanum sessiliflorum, an unexploited amazonian fruit, and their scavenging capacities against reactive oxygen and nitrogen species. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 61, n. 12, p. 3022–3029, 2013.

RODRIGUEZ-SAONA, L. E.; WROLSTAD, R. E. Extraction, isolation and purification of Anthocyanins. **Current Protocols in Food Analytical Chemistry**, p. F1.1.1-F1.1.11., 2001.

ROSA, J. S. DA et al. Desenvolvimento de um método de análise de vitamina C em alimentos por cromatografa líquida de alta eficiência e exclusão iônica. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v. 27, n. 4, p. 837–846, 2007.

SANTOS, D. M. M. DOS. Fotossíntese. Disponível em: http://www.fcav.unesp.br/Home/departamentos/biologia/DURVALINAMARIAM.DO SSANTOS/TEXTO-27-FOTOSSINTESE-FATORES LIMITANTES-ECOFISIOLOGIA-2005.pdf>. Acesso em: 24 jun. 2018.

SCALBERT, A.; JOHNSON, I. T.; SALTMARSH, M. **Polyphenols:** antioxidants and beyond. The American journal of clinical nutrition, 2005.

SCHWARTZ, S. J.; ELBE, J. H. VON; GIUSTI, M. M. Corantes. In: DAMODARAN, S.; PARKIN, K. L.; FENNEMA, O. R. (Eds.). . Química de

Alimentos de Fennema. 4. ed. Porto Alegre: Artmed, 2010. p. 445–498.

SHAN, B. et al. Antioxidant capacity of 26 spice extracts and characterization of their phenolic constituents. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 53, n. 20, p. 7749–7759, 2005.

SIES, H. Oxidative stress: From basic research to clinical application. **The American Journal of Medicine**, v. 91, n. 3 SUPPL. 3, p. 31–38, 1991.

SINGH, D. et al. LEDs for energy efficient greenhouse lighting. **Renewable and Sustainable Energy Reviews**, v. 49, p. 139–147, 2015.

SINGLETON, V.; ROSSI, J. Colorimetry of Total Phenolic Compounds with Phosphomolybdic-Phosphotungstic Acid Reagents. **American Journal of Enology and Viticulture**, v. 16, p. 144–158, 1965.

SOUZA, F. X. DE. Materiais para formulção de substratos na produção de mudas e no cultivo de plantas envasadas. Fortaleza: Embrapa Agroindustrial Tropical, 2000.

SPECHT, K. et al. Urban agriculture of the future: an overview of sustainability aspects of food production in and on buildings. **Agriculture and Human Values**, v. 31, n. 1, p. 33–51, 2014.

SPENCER, J. P. E. et al. Biomarkers of the intake of dietary polyphenols: Strengths, limitations and application in nutrition research. **British Journal of Nutrition**, v. 99, n. 1, p. 12–22, 2008.

STAHL, W.; SIES, H. Lycopene: A biologically important carotenoid for humans? Archives of Biochemistry and Biophysics, v. 336, n. 1, p. 1–9, 1996.

TAIE, H. A. A.; SALAMA, Z. A.-E. R.; RADWAN, S. Potential Activity of Basil Plants as a Source of Antioxidants and Anticancer Agents as Affected by Organic and Bio-organic Fertilization. **Notulae Botanicae Horti Agrobotanici**, v. 38, n. 1, p. 119–127, 2010.

TIWARI, S. Plants: A rich source of herbal medicine. Journal of Natural **Products**, v. 1, p. 27–35, 2008.

UNITED NATIONS. World Urbanization Prospects: The 2014 Revision, HighlightsEconomic & Social Affairs. New York: [s.n.]. Disponível em: http://esa.un.org/unpd/wup/Highlights/WUP2014-Highlights.pdf>.

VALKO, M. et al. Free radicals and antioxidants in normal physiological functions and human disease. **The International Journal of Biochemistry & Cell Biology**, v. 39, n. 39, p. 44–84, 2007.

VARGAS, E. F. DE et al. Pelargonidin 3-Glucoside Extraction from the Residue from Strawberry Processing (Fragaria X Ananassa). **Current Bioactive Compounds**, v. 12, n. 4, p. 269–275, 2016.

VIUDA-MARTOS, M. et al. Spices as Functional Foods. Critical Reviews in Food Science and Nutrition, v. 51, n. 1, p. 13–28, 2011.

WOJDYŁO, A.; OSZMIAŃSKI, J.; CZEMERYS, R. Antioxidant activity and phenolic compounds in 32 selected herbs. **Food Chemistry**, v. 105, n. 3, p. 940–949, 2007.

XIAO, H. et al. Chicoric acid prevents obesity by attenuating hepatic

steatosis, inflammation and oxidative stress in high-fat diet-fed mice. [s.l.] Elsevier B.V., 2013. v. 54

YASHIN, A. et al. Antioxidant activity of spices and their impact on human health: A review. **Antioxidants**, v. 6, n. 3, p. 18, 2017.

ZHANG, J.-W.; LI, S.-K.; WU, W. The Main Chemical Composition and in vitro Antifungal Activity of the Essential Oils of Ocimum basilicum Linn. var. pilosum (Willd.) Benth. **Molecules**, v. 14, n. 1, p. 273–278, 2009.