

UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO
FACULDADE DE CIÊNCIAS FARMACÊUTICAS
Programa de Pós-Graduação em Farmácia
Área de Bromatologia

Determinação de flavonóides em alimentos vegetais
consumidos no Brasil

Paola Raffaella Arabbi

Dissertação para obtenção do grau de
MESTRE

Orientador:
Prof. Dr. Franco Maria Lajolo

São Paulo
2003

DEPARTAMENTO
Faculdade de Ciências Farmacêuticas
Universidade de São Paulo

UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO
FACULDADE DE CIÊNCIAS FARMACÊUTICAS
Programa de Pós-Graduação em Farmácia
Área de Bromatologia

Determinação de flavonóides em alimentos vegetais
consumidos no Brasil

Paola Raffaella Arabbi

Dissertação para obtenção do grau de
MESTRE

Orientador:
Prof. Dr. Franco Maria Lajolo

São Paulo
2003

17709

DEDALUS - Acervo - CQ



30100005621

Ficha Catalográfica
Elaborada pela Divisão de Biblioteca e
Documentação do Conjunto das Químicas da USP.

Arabbi, Paola Raffaella

A658d Determinação de flavonóides em alimentos vegetais consumidos no Brasil / Paola Raffaella Arabbi. -- São Paulo, 2003.

94p.

Dissertação (mestrado) - Faculdade de Ciências Farmacêuticas da Universidade de São Paulo. Departamento de Alimentos e Nutrição Experimental.

Orientador: Lajolo, Franco Maria

1. Alimento : Composto fenólico : Ciência dos alimentos
2. Bioquímica dos alimentos 3. Vegetais : Ciência dos alimentos
4. Alimento : Tabelas : Ciências dos alimentos
I. T. II. Lajolo, Franco Maria, orientador.

641 CDD

Paola Raffaella Arabbi

Determinação de flavonóides em alimentos vegetais
consumidos no Brasil

Comissão Julgadora
da
Dissertação para obtenção do grau de Mestre

Prof. Dr. Franco Maria Lajolo
orientador/presidente

1º. examinador

2º. examinador

São Paulo, 09 de setembro de 2003.

Não há como uma torrente se transformar em luz e energia se não encontrar barragens. Não há existência humana que se auto-realize plenamente enquanto não for orientada por um projeto de vida e motivada por um ideal.

(Harry E. Fosdick)

Dedico este trabalho
Em especial, ao meu marido Wolff
Aos meus pais Inês e Pietro Arabbi
Aos meus irmãos Roberta e Nicola
Que este trabalho justifique o tempo não gasto com vocês...

AGRADECIMENTOS

Sinceros agradecimentos aos meus pais e aos meus irmãos, pela cumplicidade, pelo apoio, pelo conforto e principalmente pela compreensão da minha ausência em alguns momentos do convívio familiar.

Agradeço ao Wolff pelo seu amor incondicional, pelo respeito ao meu trabalho e, principalmente, pela extrema paciência...

Agradeço à Veronika pelas palavras sábias, pela torcida e incentivo e principalmente pelo carinho desprendido durante a revisão do trabalho.

Ao Prof. Franco Lajolo que se dispôs a realizar este trabalho, agradeço pela confiança, pelo conhecimento adquirido e pela oportunidade de adquiri-lo.

Agradeço à Profa. Maria Inés Genovese pelo apoio e auxílio constantes, fundamentais na elaboração do trabalho.

Ao Prof. Eduardo Purgatto sempre disposto a socorrer nos momentos de dúvidas, pelo incentivo e pela amizade.

Agradeço também aos professores do Departamento de Alimentos, Profa. Beatriz Cordenunsi, Profa. Elizabeth Menezes, Prof. João Roberto Oliveira que em algum momento me brindaram com seu auxílio, à Profa. Ursula Marquez, pelo uso do laboratório e equipamento, e em especial à Profa. Celia Colli, que me iniciou no meio científico e acreditou em mim.

Meu muito obrigada aos professores Antonio Salatino e Massuo Jorge Kato pelas contribuições valiosas e sugestões apontadas.

“... Ouvir a opinião do outro não é um limite, mas uma possibilidade de sair do círculo vicioso de eu para entrar na riqueza do nós...” (Emmanuel Mourier).

Ao pessoal da Secretaria de Alimentos e Nutrição Experimental, Ângela, Mônica, Isabel, Catarina e Tânia, e ao pessoal da Secretaria de Pós-Graduação, Jorge, Elaine, Benê, sempre solícitos e gentis.

Há certas pessoas que agradecemos em nossas preces por coisas que apreciamos tanto, mas, por mais que tentemos, às vezes não conseguimos dizer as palavras que expressariam tudo isso. São pessoas que saem de seu caminho, para ir onde é preciso, mostrando compreensão, aliviando o peso e nos ajudando com todo o coração: Alberto, Adair, Adriana, Ana Cristina, Ana Paula, Eliana, Elaine (Lab. Lípidos), Giselli, Janaína, Jacqueline, Liliana (Lab. Nutrição), Lúcia, Maria Luiza, Márcia, Marcinha, Maurício, Neuza, Priscila, Renata, Ricardo, Rose, Stella, Tânia, Thomas, que, graças às discussões, ao auxílio, à solidariedade e ao companheirismo prestados contribuíram para que este trabalho fosse realizado.

Agradeço também pela companhia de alguns colegas em alguns dias e horários extra-oficiais de trabalho, como finais de semana, feriados e durante o “turno noturno”, compartilhando meu medo e recebendo conforto...

À Coordenação da Vigilância Sanitária de Portos, Aeroportos e Fronteiras de São Paulo (CVSPAF/SP) pelo apoio dos colegas e, em especial à Coordenadora Maria Lúcia, além do apoio, a compreensão.

À CAPES pela bolsa, e à FAPESP pelo suporte financeiro do laboratório.

Agradeço ao Nosso Pai Maior pela oportunidade da vida e de fazer escolhas. Sou grata a todos aqueles que de certa forma fizeram parte deste trabalho (peço desculpas caso tenha me esquecido de alguém..)

Obrigada.

ÍNDICE

1. INTRODUÇÃO	1
2. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	4
2.1) Ocorrência e biossíntese dos flavonóides	4
2.1.1. Aspectos gerais	4
2.1.2. Subdivisão dos flavonóides	9
2.1.3. Diversidade estrutural dos flavonóides	10
2.2) Classificação dos flavonóides	12
2.2.1. Chalconas	13
2.2.2. Flavanonas	14
2.2.3. Flavonas e flavonóis	16
2.2.4. Taninos condensados e flavanóis	18
2.2.5. Antocianinas	20
2.2.6. Isoflavonas	24
2.3) Atividade biológica dos flavonóides	26
2.3.1. Função dos flavonóides nos vegetais	26
2.3.2. Atividade antioxidante dos flavonóides	27
2.3.3. Estudos epidemiológicos	30
2.3.4. Biodisponibilidade dos flavonóides	32
2.3.5. Atividade bioquímica <i>in vitro</i>	33
2.3.6. Atividade bioquímica <i>in vivo</i>	34
2.4) Efeitos do processamento	35
2.5) Métodos de análise dos flavonóides	37
3. OBJETIVOS	42

4. MATERIAIS E MÉTODOS	43
4.1) Levantamento de dados	43
4.2) Materiais	43
4.3) Métodos	44
4.3.1. Determinação de umidade e voláteis dos vegetais	44
4.3.2. Extração quantitativa dos flavonóides	44
4.3.3. Extração em fase sólida	45
4.3.4. Cromatografia líquida de alta eficiência	45
4.4) Expressão dos resultados	46
5. RESULTADOS E DISCUSSÃO	47
5.1) Quantificação dos flavonóides nos alimentos vegetais mais consumidos	47
5.2) Influência da sazonalidade no teor de flavonóides nos alimentos vegetais	63
5.3) Quantificação dos flavonóides nas frutas tropicais	67
5.4) Estimativa da ingestão de flavonóides	73
6. CONCLUSÕES	80
7. CONSIDERAÇÕES FINAIS	81
8. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	83
9. ANEXOS	I

LISTA DAS FIGURAS

Figura 1. Principais vias de biossíntese dos metabólitos primários e secundários	5
Figura 2. Estrutura básica dos flavonóides	6
Figura 3. Via fenilpropanoídica	7
Figura 4. Síntese do malonil-CoA	7
Figura 5. Biossíntese geral dos flavonóides	8
Figura 6. Flavonóides classificados de acordo com o grau de oxidação no anel C	9
Figura 7. Estrutura básica da rutina	10
Figura 8. Flavonóides O-glicosídeos e C-glicosídeos	11
Figura 9. Estrutura básica da chalcona	13
Figura 10. Estrutura básica da flavanona	15
Figura 11. Estrutura básica da flavona e do flavonol	17
Figura 12. Estrutura básica do flavanol	20
Figura 13. Estrutura básica da antocianidina	20
Figura 14. Esquema geral dos equilíbrios que ocorrem com o cátion flavílio, quando se muda o pH do meio	22
Figura 15. Estrutura básica da isoflavona	24
Figura 16. Atuação dos flavonóides	29
Figura 17. Influência da sazonalidade no teor de flavonóides nos alimentos vegetais	64

LISTA DAS TABELAS

Tabela 1. Teor de flavonóides em alimentos vegetais (jun/out 2001)	48
Tabela 2. Teor de flavonóides em alimentos vegetais (jan/mai 2002)	49
Tabela 3. Flavonóides presentes nas Crucíferas	53
Tabela 4. Flavonóides presentes nos tomates com epicarpo (jun/ago 2001)	56
Tabela 5. Teor de flavonóides presentes na laranja (jan/mar 2002)	59
Tabela 6. Flavonóides presentes nas maçãs com tegumento (jun/ago 2001)	60
Tabela 7. Flavonóides presentes na maçã-maio 2002	61
Tabela 8. Os produtos e suas épocas, de acordo com a CEAGESP	63
Tabela 9. Flavonóides presentes nas frutas tropicais	67
Tabela 10. Cardápio proposto para mulheres	76
Tabela 11. Cardápio proposto para homens	77
Tabela 12. Ingestão estimada de flavonóides	78

ANEXOS

- Figura A 1.** Cromatograma dos flavonóides extraídos na amostra de alface crespa, obtidos por CLAE e monitorados a 270 nm I
- Figura A 2.** Cromatograma da antocianina extraída na amostra de alface roxa, obtida por CLAE e monitorada a 525 nm I
- Figura A 3.** Cromatograma dos flavonóides extraídos na amostra de cebola branca, obtidos por CLAE e monitorados a 270 nm II
- Figura A 4.** Cromatograma da antocianina extraída na amostra de cebola roxa, obtida por CLAE e monitorada a 525 nm II
- Figura A 5.** Cromatograma dos flavonóides extraídos na amostra de rúcula, obtidos por CLAE e monitorados a 270 nm III
- Figura A 6.** Cromatograma das antocianinas extraídas na amostra de repolho roxo, obtidas por CLAE e monitoradas a 525 nm III
- Figura A 7.** Cromatograma dos flavonóides extraídos na amostra de pimentão, obtidos por CLAE e monitorados a 270 nm IV
- Figura A 8.** Cromatograma dos flavonóides extraídos na amostra de tomate, obtidos por CLAE e monitorados a 270 nm IV
- Figura A 9.** Cromatograma dos flavonóides extraídos na amostra de maçã gala, obtidos por CLAE e monitorados a 270 nm V
- Figura A 10.** Cromatograma dos flavonóides extraídos na polpa da laranja, obtidos por CLAE e monitorados a 270 nm V
-

RESUMO

Os alimentos vegetais cujos compostos bioativos apresentam potencial de redução do risco de doenças crônico-degenerativas são assunto constante de pesquisas na área de nutrição e saúde. Os flavonóides são compostos bioativos que apresentam atividade antioxidante devido à sua habilidade em reduzir a formação de radicais livres, entre outros. Este trabalho visa a quantificar os flavonóides presentes nos alimentos vegetais mais consumidos pela população brasileira. Os flavonóides encontrados abundância em todas as variedades de amostras analisadas foram glicosídeos de quercetina. Nas amostras de alface e de pimentão foi observada a presença de quercetina e luteolina juntas. A cebola branca (48 - 56 mg/100 g b.u.), a cebola roxa (40 - 100 mg/100 g b.u.), a alface roxa (67,0 - 67,2 mg/100 g b.u.), a rúcula (41 - 118 mg/100 g b.u.) e o almeirão (18 - 38 mg/100 g b.u.) foram as amostras nas quais foram encontradas as maiores concentrações de flavonóides totais. A variabilidade no conteúdo de flavonóides foi alta para os vegetais folhosos e cebolas roxas em virtude da influência da sazonalidade. Dentre as frutas, o predomínio de flavonóides totais destacou-se para as variedades de polpa de laranja (35 - 44 mg/100 g b.u.) e de polpa de maçã (14 - 36 mg/100 g b.u.). Nas frutas tropicais foi observado o predomínio das antocianinas no teor de flavonóides totais em polpa de açaí (cerca de 40 mg/100 g b.u.), no epicarpo da jabuticaba (245 mg/100 g b.u.) e na amora *in natura* (300 mg/100 g b.u.). Esses dados permitem fornecer uma estimativa das fontes de vegetais alimentícios que contribuem com teores elevados de flavonóides além de inferir sobre a ingestão diária de flavonóides pela população brasileira.

PALAVRAS-CHAVE: *alimentos vegetais brasileiros; flavonóides; influência da sazonalidade; ingestão diária.*

ABSTRACT

The flavonoids are bioactive compounds that present antioxidant activity due to their ability of reducing the formation of free radicals. The objective of this work was to quantify the flavonoids present in the vegetable foods most consumed by the Brazilian population. The flavonoids found in the largest abundance in all the vegetables analyzed were the glycosides of quercetin. In lettuce and bell pepper, were also observed the presence of both quercetin and luteolin. The white onion (48 - 56 mg/100 g FW), the purple onion (40 – 100 mg/100 g FW), the purple lettuce (67,0 mg/100 g FW), the rucula (41 - 118 mg/100 g FW) and the chicory (18 - 38 mg/100 g FW) were the samples in which the largest concentrations of total flavonoids were found. Variability in flavonoid content due time of harvesting was high high for leafy vegetables and purple onions. In fruits, the largest concentrations of flavonoids were found in pulp of oranges (35 - 44 mg/100 g FW) and some apple varieties (14 – 36 mg/100 g FW). In tropical fruits, the largest concentrations of anthocyanins were found in pulp of açai (40 mg/100 g FW), in jabuticaba epicarp (245 mg/100 g FW) and in mulberry (300 mg/100 g FW) These data provide a basis for the evaluation of the vegetable foods that contribute with average intake of flavonoids by the Brazilian population.

KEYWORDS: *Brazilian vegetable foods; flavonoids; time of harvesting; daily intake.*

1. INTRODUÇÃO

O uso de alimentos com a possibilidade de atuação para a redução de risco de doenças crônico-degenerativas tem sido assunto constante de pesquisas na área da nutrição e saúde. O reconhecimento da relação saúde–nutrição–doença; as pesquisas clínicas e os levantamentos epidemiológicos; além da evolução de conceitos relativos às recomendações nutricionais; os fenômenos sócio-econômicos e ainda as perspectivas industriais são fatores que contribuem para os estudos decorrentes dos efeitos benéficos dos alimentos. De acordo com Lajolo (2002), no Brasil e na América Latina, as perspectivas referentes a um mercado produtor e consumidor de alimentos funcionais dependerão do nível de conhecimento da população, da credibilidade nesses produtos, do auxílio fornecido pela pesquisa e dos órgãos governamentais.

Atualmente, a América Latina sofre uma transição demográfica e epidemiológica. Como consequência, observa-se aumento da urbanização e da expectativa de vida, bem como a ocorrência de obesidade e má-nutrição, contribuindo para elevar a incidência de doenças crônicas. A nutrição é reconhecida como um dos maiores determinantes de saúde, o que ressalta a importância da dieta e dos alimentos funcionais nos programas públicos (Lajolo, 2002).

Desta maneira, novos produtos alimentícios são gerados através do avanço dos conhecimentos científicos, relacionando dieta e saúde, aliados também aos custos da saúde pública e aos interesses econômicos da indústria. No passado, quando a indústria alimentícia elaborava alimentos com pretensões saudáveis, eliminava algo cuja presença ou excesso poderia ser nocivo. Atualmente, existe a preocupação em incorporar ingredientes que possuam propriedades capazes de proporcionar atividade benéfica. Além do mais, a sociedade, o consumidor, a comunidade científica, os órgãos

reguladores e a mídia formaram uma nova conscientização sobre a relação saúde e hábitos alimentares (Arabbi, 2001).

Sabe-se que as frutas e verduras são fontes ricas em micronutrientes e fibras, além de conter uma imensa variedade de metabólitos secundários ativos que oferecem cor e sabor. Entre as mais importantes classes dessas substâncias estão os carotenóides, os flavonóides e os compostos fenólicos, as saponinas, os fitosteróis e os glicosinolatos (Mithen *et al.*, 2000).

O papel dos compostos fenólicos com relação à qualidade dos alimentos tem sido descrito em uma série de livros e revisões durante os últimos dez anos (Macheix *et al.*, 1990; Robinson, 1991; Robards *et al.*, 1999). Embora não apresentem importância nutricional direta, têm recebido muita atenção devido às diferentes atividades biológicas. Uma atraente hipótese sugere que os alimentos vegetais contenham compostos metabólicos secundários que apresentam efeitos benéficos à saúde, entre os quais anti-inflamatórios e antioxidantes, independentes da presença dos micronutrientes e de componentes nutritivos (Caragay, 1992; Steinmetz e Potter, 1996; Hollman e Katan, 1997; Hollman e Katan, 1999; Harborne e Williams, 2000).

Os flavonóides são caracterizados estruturalmente como difenilpropanos ($C_6-C_3-C_6$) que ocorrem naturalmente nos alimentos vegetais, como componentes usuais da dieta humana. Em geral, eles são encontrados nos alimentos na forma de O-glicosídeos (Markham, 1982; Hertog *et al.*, 1992).

A participação dos flavonóides na dieta é pouco documentada. Na década de 60, a ingestão de flavonas e flavonóis em vários países variava entre 3 mg/dia na Finlândia e 70 mg/dia no Japão (Hollman e Katan, 1999). De acordo com Kuhnau (1976), nos Estados Unidos, na década de 70, a ingestão diária era de 170 mg (expressos como agliconas ou 1 g expressos como glicosídeo) e incluía os grupos de flavonóis, flavonas e flavanonas. Esses valores foram estimados por técnicas atualmente consideradas impróprias e superestimavam a ingestão diária total. Na Holanda, no período de 1987-1988, a ingestão diária de flavonóides foi estimada em 23 mg/dia, na forma de agliconas. Porém, as

análises foram restritas a alguns flavanóis e flavonas selecionados e representaram uma ingestão total de flavonóides incompleta (Hertog *et al.*, 1993a).

Pode-se dizer que no Brasil não existem informações ou tabelas completas e atualizadas com a composição em nutrientes e não nutrientes com ação fisiológica dos nossos alimentos. A elaboração de um sistema de dados com essas informações tem sido aspiração dos profissionais ligados à alimentação e nutrição, e a recomendação de vários congressos realizados (Lajolo, 1995). Dentro das prioridades de pesquisa do grupo de trabalho sobre composição de alimentos, encontra-se a análise de não-nutrientes com função fisiológica já conhecida ou prevista, como os flavonóides, glucosinolatos, isoflavonas, amido resistente, principalmente em alimentos vegetais regionais (Lajolo, 1995, Lajolo e Menezes, 1997).

Considerando que as propriedades biológicas apresentadas pelos flavonóides *in vitro* se devam principalmente ao seu efeito antioxidante e que a maior fonte natural destes compostos são os vegetais da nossa dieta, é de grande interesse identificar as fontes alimentares que apresentem níveis elevados de flavonóides, uma vez que esses dados são pouco documentados no Brasil.

Este trabalho visa a quantificar os flavonóides presentes nos alimentos mais consumidos, além de fornecer uma avaliação média do consumo dos flavonóides pela nossa população.

2. REVISÃO

2.1 Ocorrência e biossíntese de flavonóides

2.1.1 Aspectos Gerais

Historicamente, o processo de produção dos compostos nos vegetais tem sido separado entre o metabolismo primário e o secundário. Os metabólitos secundários têm sua importância reconhecida à vida do vegetal como a atração de polinizadores e dispersores e também nos processos defensivos contra patógenos. Alguns intermediários como acetil-CoA, ácido pirúvico, ácido chiquímico e os aminoácidos estabelecem a conexão entre os grupos de metabolismos primário e secundário através de três principais vias: a via do acetato-malonato, a via do acetato-mevalonato e a via do ácido chiquímico (Figura 1). Os precursores do ácido chiquímico a eritrose-4-fosfato e o fosfoenol-piruvato são metabólitos primários derivados da glicose-6-fosfato (via pentose fosfato) e do processo de glicólise. Na via do ácido chiquímico o ácido corísmico pode ser considerado metabólito primário, que em presença de glutamina é convertido a ácido antranílico tendo, como produto final de sua biossíntese, o aminoácido triptofano. Em presença da corismato mutase, o ácido corísmico é convertido a ácido prefênico, do qual são obtidos como produtos finais da biossíntese os aminoácidos fenilalanina e tirosina (Vickery e Vickery, 1981).

Os compostos fenólicos encontram-se amplamente distribuídos no reino vegetal. Os três maiores grupos de fenólicos da dieta são os flavonóides, os polifenóis e os ácidos fenólicos que incluem os ácidos hidroxicinâmicos, entre os quais caféico, ferúlico e clorogênico, e os ácidos hidroxibenzóicos, como o ácido elágico e o ácido gálico (King e Young, 1999).

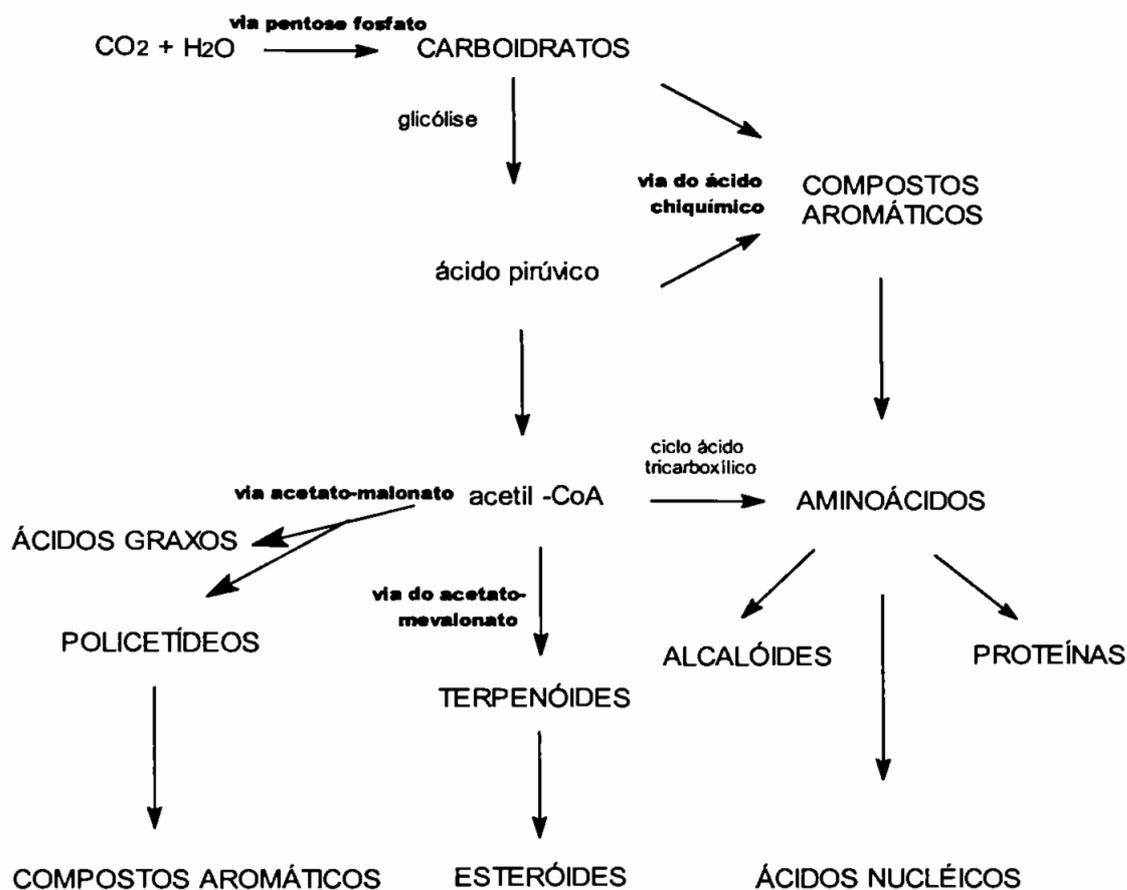


Figura 1. Vias de biossíntese nos vegetais (adaptado Vickery e Vickery, 1981)

Os taninos são polímeros fenólicos, compostos de alto peso molecular divididos em duas classes: taninos hidrolisáveis, que compreendem polímeros de ácido gálico ou elágico, encontrados em frutas como o morango, a uva e nas nozes; e os taninos condensados, polímeros de catequinas ou epicatequinas, universais em Angiospermas (King e Young, 1999).

Cerca de 2% do carbono fotossintetizado pelos vegetais (ou 1×10^9 t/ano) são convertidos em flavonóides ou componentes similares (Markham, 1982).

Os flavonóides constituem um dos maiores grupos de fenóis naturalmente presentes nos vegetais, ocorrendo como agliconas (estruturas sem carboidrato) ou como glicosídeos. Sua estrutura básica (Figura 2) consiste de um sistema de 15 C, arranjados em $C_6C_3C_6$, no qual os dois anéis aromáticos estão ligados por uma unidade de três átomos de carbono que podem ou não formar um terceiro anel C (Markham, 1982).

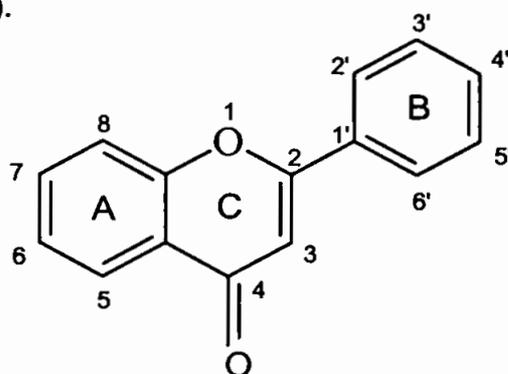


Figura 2. Estrutura básica dos flavonóides

A diversa família de flavonóides é constituída de moléculas aromáticas derivadas da fenilalanina e da malonil-coenzima A (CoA, via ácido graxo). Sua biossíntese é considerada mista devido ao envolvimento das vias do ácido chiquímico, seguido da extensão da cadeia através da associação com a via do acetato-malonato, que origina o anel aromático A. As três enzimas da via fenil-propanoídica (Figura 3), envolvidas na síntese dos flavonóides, referidas como as enzimas do Grupo I, devido à síntese coordenada em resposta à radiação ultra-violeta, são a fenilalanina amônia-liase (PAL), cinâmico 4-hidroxilase (C_4H) e 4-cumarato:CoA ligase (Stafford, 1990).

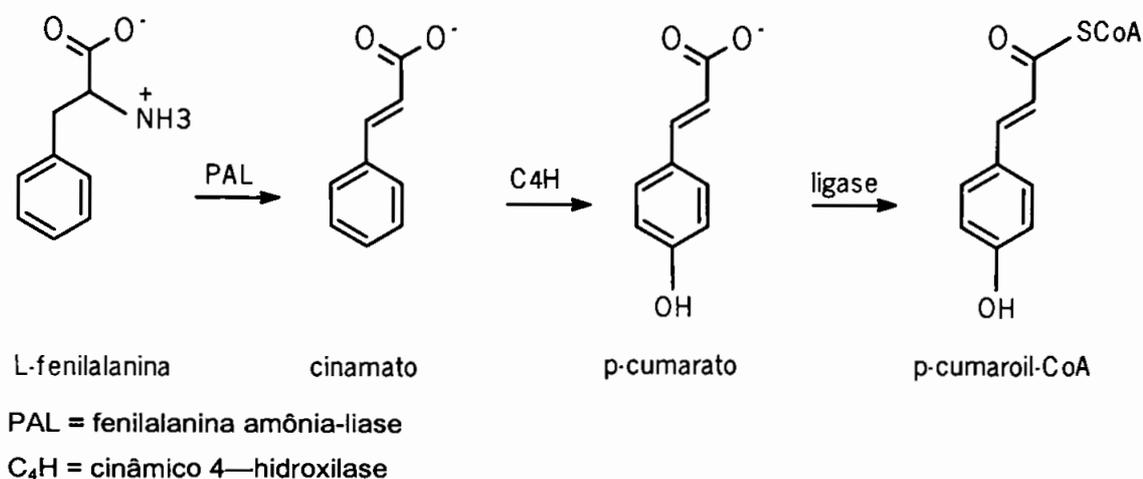


Figura 3. Via fenilpropanoídica

O malonil-CoA (Figura 4) é formado numa reação entre a acetil CoA e o gás carbônico (CO₂), catalisada pela acetil-coenzima A carboxilase (acetil-coenzima A: bicarbonato ligase) em presença de ATP e Mg²⁺. De acordo com Stafford (1990), a principal função do malonil-CoA é providenciar a unidade de carbono para a enzima ácido graxo sintase.

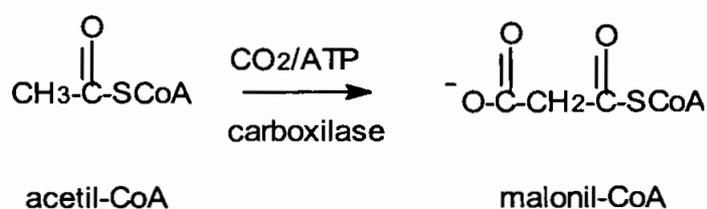


Figura 4. Síntese do malonil-CoA

Do ponto de vista da genética molecular muitos esforços têm sido direcionados atualmente para a elucidação da via biossintética dos flavonóides (Figura 5). Culturas como o milho e as flores boca-de-leão e petúnia foram estabelecidas como modelo experimental a fim de isolar a maioria dos genes de estrutura e regulação. Outro exemplo mais recente é o caso da *Arabidopsis* que tem ajudado a facilitar a análise da regulação e organização subcelular da via dos flavonóides (Winkel-Shirley, 2001).

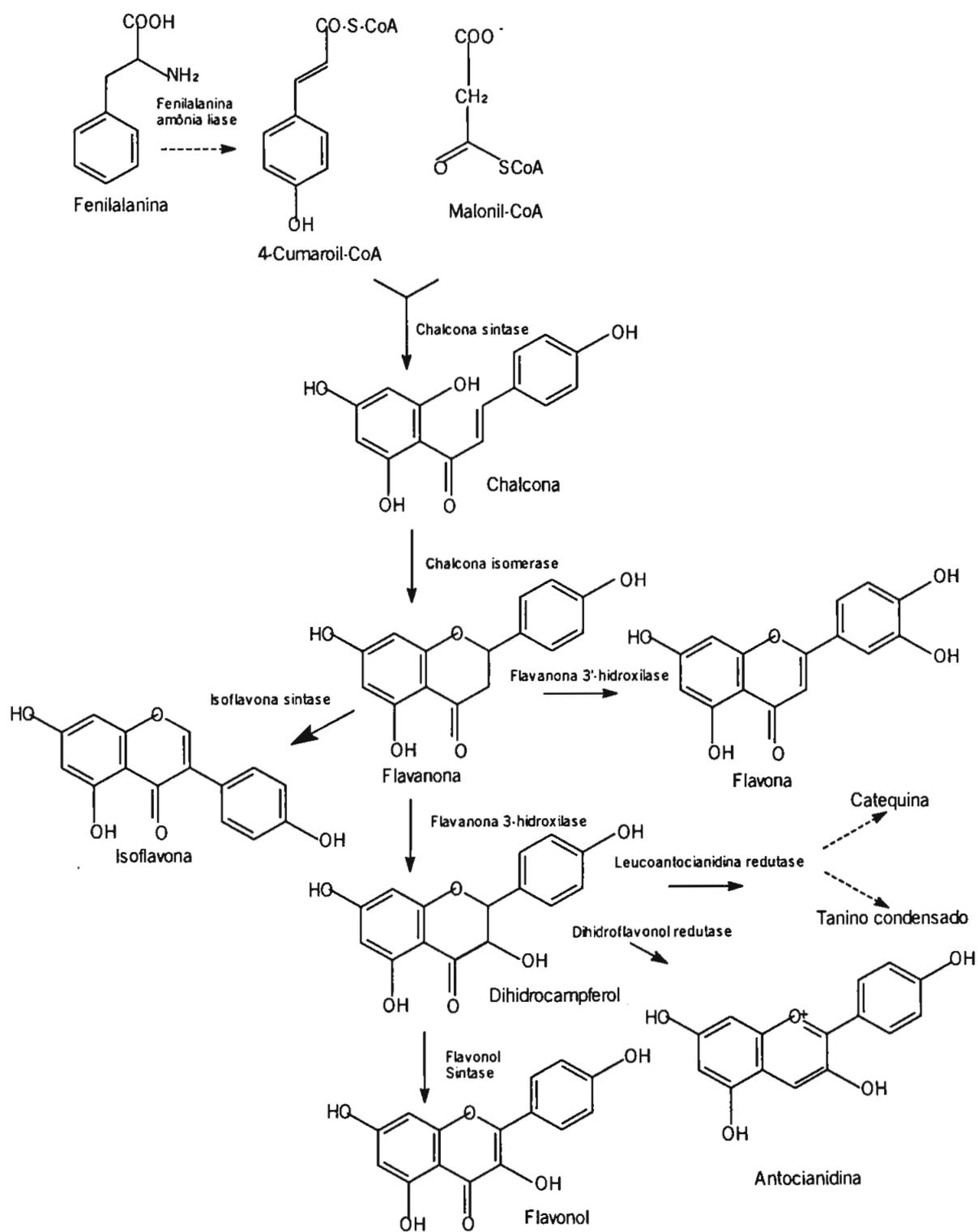


Figura 5. Biossíntese geral dos flavonóides (adaptado de Winkel-Shirley, 2001)

2.1.2 Subdivisão dos flavonóides

Os flavonóides naturais são divididos em subclasses baseadas no estado de oxidação do anel central C (Figura 6). Os grupamentos hidroxilas estão normalmente presentes nos anéis aromáticos ou podem estar combinados com grupamentos metoxilas ou glicosídeos (Robinson, 1991).

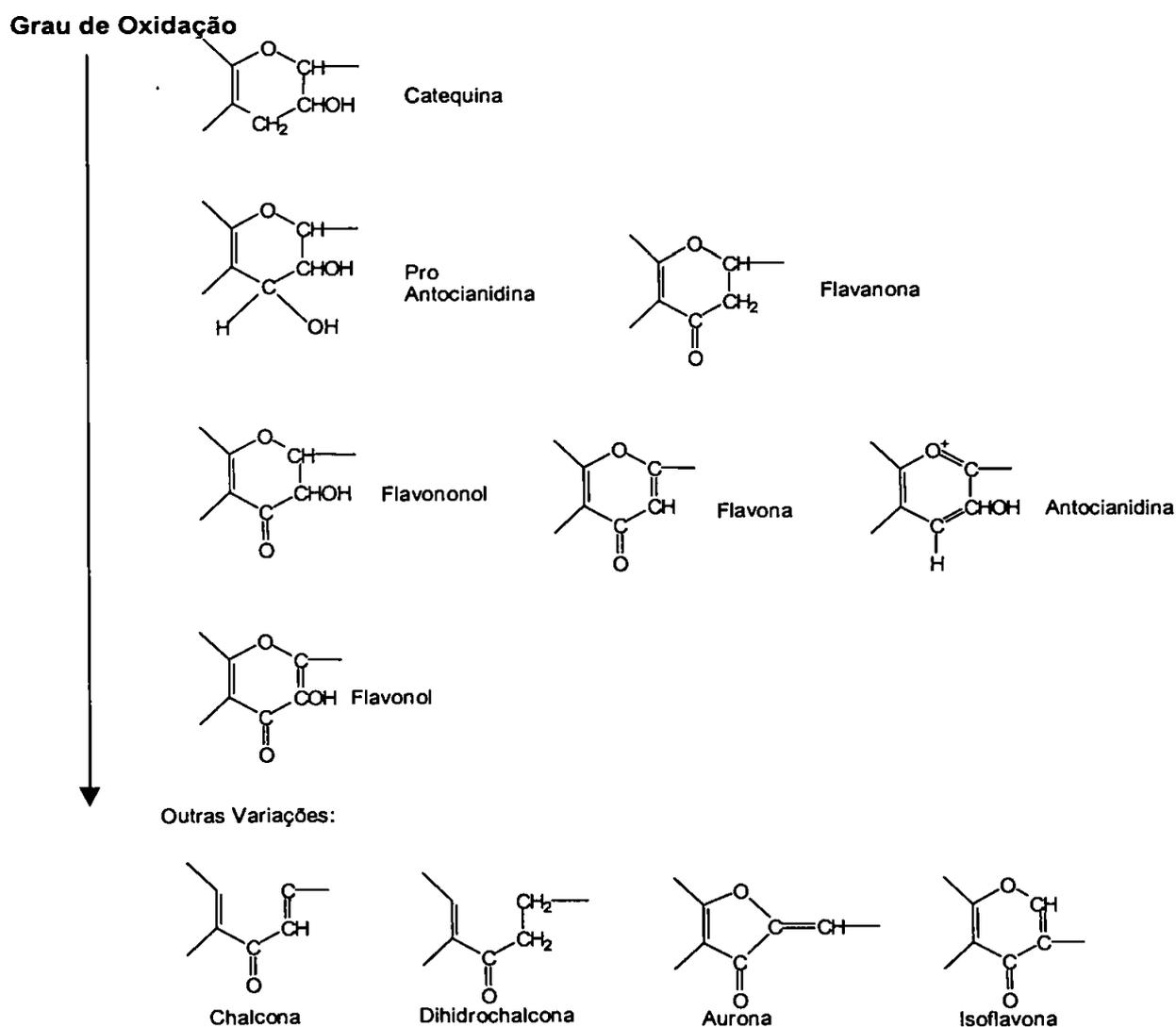


Figura 6. Flavonóides classificados de acordo com o grau de oxidação no anel C (adaptado de Robinson, 1991)

2.1.3 Diversidade estrutural dos flavonóides

A estrutura química dos flavonóides permite sua classificação em flavanonas, flavonóis, flavonas, isoflavonas, flavanóis (catequinas), dihidroflavonóis e antocianinas. A presença de substituições que incluem hidrogenação, hidroxilação, metilação, malonilação, sulfatação e glicosilação modificam sua estrutura química. Muitos flavonóides ocorrem naturalmente como flavonóides glicosilados, e os carboidratos mais encontrados são a D-glicose, L-ramnose, galactose e arabinose. A rutina (Figura 7) é um dos exemplos dos flavonóides mais comuns na dieta (Cook & Samman, 1996).

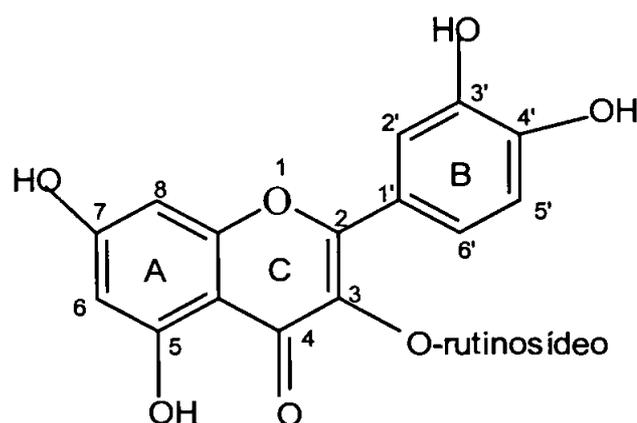


Figura 7. Estrutura básica da rutina

As modificações posteriores estão relacionadas às substituições químicas básicas como a hidroxilação nas posições 5 e 7 do anel A, derivadas da molécula de acetato. Já a hidroxila, na posição 4 do anel B, é formada através da via fenil-propanoídica. Substituições como a metilação e a isoprenilação podem ocorrer nos grupamentos hidroxila ou nos núcleos dos flavonóides (Markham, 1982; Stafford, 1990).

A acilação nos glicosídeos é muito comum nos vários grupos de flavonóides. Os grupamentos acil estão geralmente presentes nos ácidos

aromáticos, como os ácidos hidroxicinâmicos, ou nos ácidos alifáticos, como o ácido malônico. Eles parecem ser específicos de acordo com a posição do glicosídeo. Os glicosídeos de malonil são comuns nas isoflavonas, sendo raramente encontrados nas flavonas, flavonóis e antocianidinas (Stafford, 1990).

Dentre todas as substituições, a mais importante é a glicosilação nos grupamentos hidroxila para a produção de flavonóides O-glicosídeos e nos núcleos dos flavonóides para a obtenção dos flavonóides C-glicosídeos (Figura 8).

Com o efeito da glicosilação ocorre a diminuição da reatividade do flavonóide e o aumento da solubilidade em água, o que permite o armazenamento dos flavonóides no vacúolo celular onde eles são localizados (Markham, 1982; Stafford, 1990).

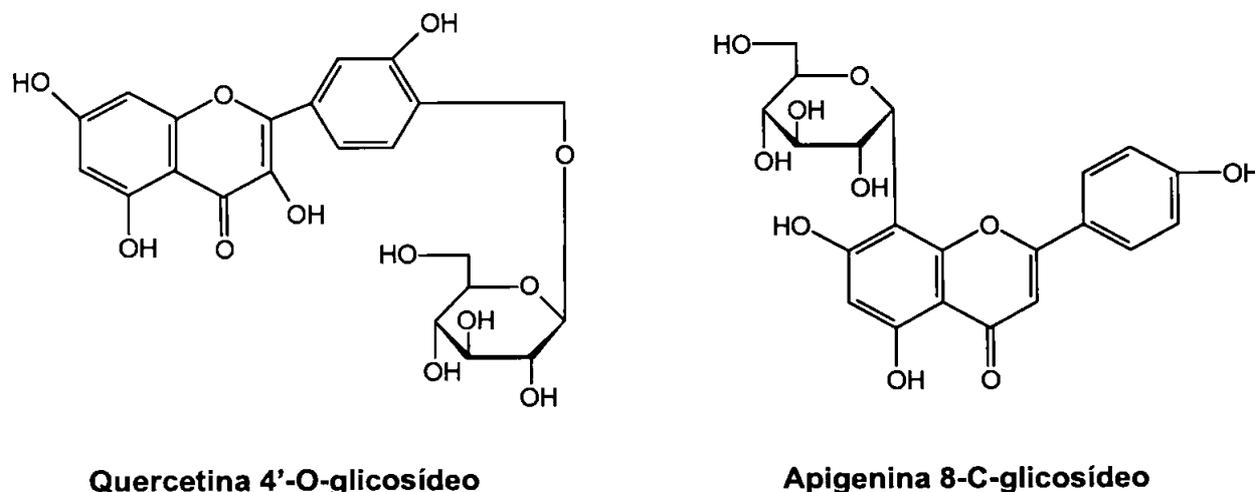


Figura 8. Flavonóides O-glicosídeos e C-glicosídeos

Apesar de qualquer grupamento hidroxila sofrer oxidação, alguns sítios apresentam maior probabilidade de ser glicosilados do que outros, como ocorre com o grupamento hidroxila na posição 7 para as flavonas, isoflavonas e dihidroflavonas, grupamentos hidroxila nas posições 3 e 7 dos flavonóis e dihidroflavanóis, além de grupamentos hidroxila nas posições 3 e 5 nas

antocianidinas. O açúcar mais comum é a glicose mas a presença de ramnose, xilose e arabinose não é incomun (Markham, 1982).

Nos flavonóides C-glicosídeos os açúcares podem estar ligados diretamente ao núcleo benzênico através da ligação carbono-carbono, geralmente nas posições 6 e 8. Apesar de as isoflavonas, as flavanonas e os flavanóis ocorrerem ocasionalmente na forma C-glicosilada, observa-se o predomínio das flavonas C-glicosiladas (Markham, 1982). De acordo com Stafford (1990), os flavonóides O-glicosídeos e C-glicosídeos podem ter vias biossintéticas diferentes, isto é, a O-glicosilação ocorre no estágio final da biossíntese; por outro lado, a C-glicosilação pode ocorrer num estágio inicial porque o açúcar é diretamente anexado ao núcleo, especialmente ao anel A .

2.2 Classificação dos flavonóides

Os flavonóides podem ser classificados em antoxantinas e antocianinas. As antoxantinas são moléculas de coloração branca, amarela ou incolor, correspondentes aos flavonóis, flavonas, flavanóis, isoflavonas e catequinas.

As antocianinas são pigmentos vermelhos, azuis e roxos, cujas agliconas, solúveis em água, são chamadas de antocianidinas. As antocianinas que ocorrem nos vegetais são a pelargonidina, cianidina, peonidina, delphinidina, petunidina e malvidina. Estes componentes estão entre os principais pigmentos nas frutas e flores, e sua cor é influenciada pelo pH e complexação com íons metálicos (Dillard e German, 2000).

2.2.1 Chalconas

O primeiro intermediário na via dos flavonóides é uma estrutura de cadeia central aberta (anel C), a chalcona naringenina (Figura 9), formada pela enzima chalcona sintase, que ocupa uma posição pivotal na biossíntese dos diversos grupos de flavonóides. As duas enzimas reguladoras deste primeiro passo, a chalcona sintase e a chalcona isomerase, participam da síntese das flavanonas. Estudos realizados a fim de testar a atividade dessas duas enzimas verificaram que através do bloqueio da isomerase eram obtidos como produtos finais tanto a chalcona como a flavanona em virtude da ciclização não enzimática. Em presença da atividade da chalcona isomerase tem-se como produto final apenas a flavanona naringenina (Stafford, 1990).

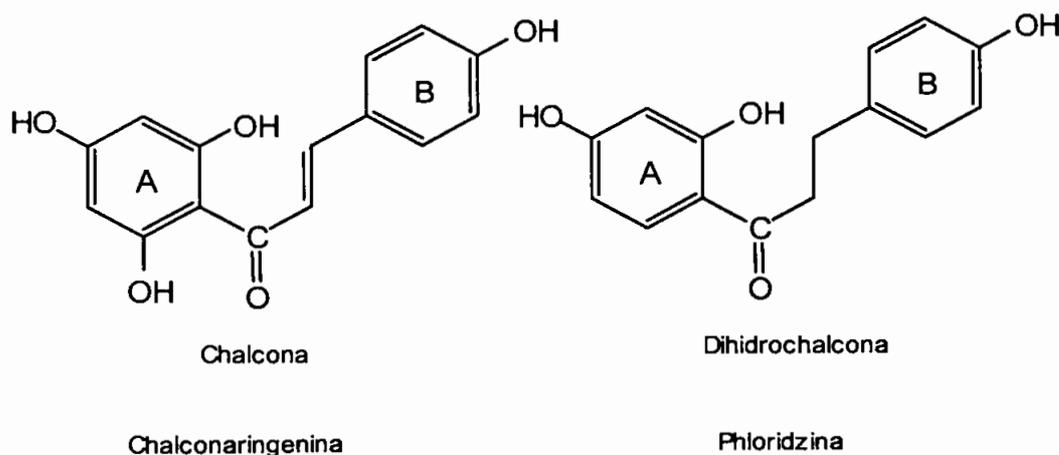


Figura 9. Estrutura básica da chalcona

A regulação da expressão gênica das chalconas sintases por agentes externos como a luz foi bem estudada. Observou-se que a atividade da chalcona sintase em *Arabidopsis thaliana* foi aumentada em 50 vezes devido à alta intensidade de luz branca, seguida da acumulação dos pigmentos de antocianinas.

Em geral, as unidades de carbono dos anéis A e B das chalconas e

dihidrochalconas são identificadas de acordo com um sistema único para estes grupos. As chalconas possuem dupla ligação entre as posições α e β , o que não ocorre nas hidrochalconas. A cor da maioria das chalconas muda para o amarelo em virtude da presença da dupla ligação. Entretanto esta cor desaparece quando os glicosídeos de chalcona são hidrolisados por ácidos. Isto se deve à conversão das chalconas nas suas flavanonas correspondentes através da ciclização do anel C (Iwashina, 2000).

Os glicosídeos de chalcona também tendem a formar suas flavanonas correspondentes durante a extração. Além do mais, a ocorrência das chalconas está restrita a alguns alimentos vegetais, como o tomate e a maçã. As flavanonas, os flavanonóis, as chalconas e dihidrochalconas são compostos bioquimicamente relacionados de ocorrência restrita; e, por esta razão, são descritos como flavonóides menores (Tomás-Barberán e Clifford, 2000).

A chalcona naringenina está presente no epicarpo do tomate e pode estar presente no molho, no suco e no ketchup. As dihidrochalconas são características da maçã e seus produtos derivados, como o suco e as cidras. A phloridzina presente nas maçãs pode variar quantitativamente, dependendo do cultivar. Ela está localizada no tegumento, na polpa e especialmente nas sementes, onde corresponde a cerca de 60% do conteúdo total de fenóis (Tomás-Barberán e Clifford, 2000).

2.2.2 Flavanonas

As flavanonas e as 3-hidroflavanonas (dihidroflavonóis) diferem no padrão de hidroxilação do anel B. As duas enzimas que hidroxilam os dois anéis são diferentes e não são específicas para a hidroxilação do anel B. Isto pode gerar duas vias metabólicas para a produção de dihidroquercetina, assim como podem ser geradas três vias metabólicas para a obtenção da dihidromiricetina. Estes componentes não atuam só como intermediários da via metabólica mas também são acumulados como produtos finais, especialmente

na forma glicosilada. O tipo e a quantidade destes intermediários acumulados varia entre os tecidos e entre os vegetais (Stafford, 1990).

As flavanonas (Figura 10) são caracterizadas pela ausência da dupla ligação entre as posições 2 e 3 e pela presença de um centro quiral na posição 2. Nos vegetais superiores sua distribuição é ampla entre muitas famílias, especialmente Compositae, Leguminosae e Rutaceae (Iwashina, 2000).

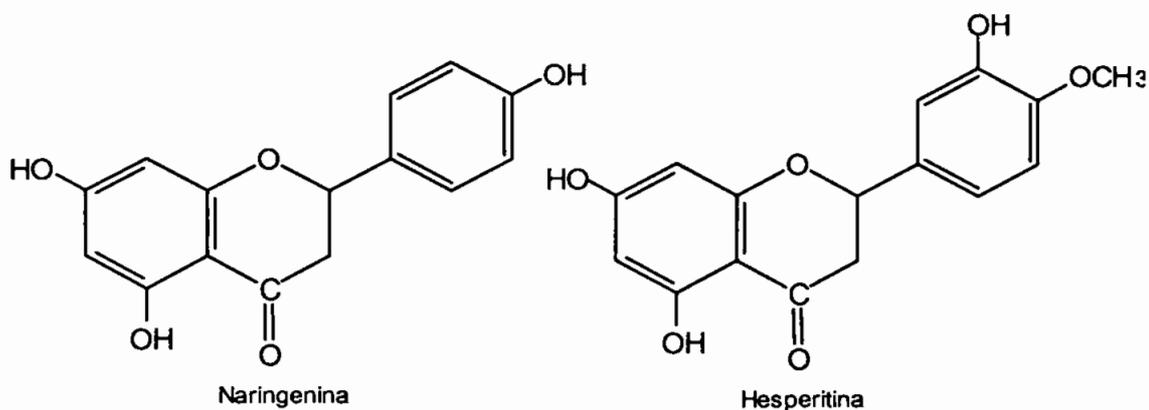


Figura 10. Estrutura básica da flavanona

As flavanonas podem ser convertidas facilmente nas suas chalconas isoméricas em meio alcalino (ou vice-versa em meio ácido). Elas são mais solúveis do que as chalconas e tendem a se separar primeiro em cristalização fracionada e são facilmente precipitadas a baixos pHs, especialmente se as soluções forem resfriadas. Estes precipitados tornam-se insolúveis em água, metanol, etanol ou acetona. O aquecimento ou o uso de soluções fortes como dimetil sulfóxido, ou a mistura de dimetil sulfóxido com metanol na proporção de 1:1 são essenciais para recuperar o precipitado (Tomás-Barberán e Clifford, 2000).

Normalmente as flavanonas, características das frutas cítricas, ocorrem na forma de glicosídeos com o açúcar anexado na posição 7. Rutinosídeos como a hesperidina encontram-se presentes nas frutas como o limão, a lima, a tangerina e a laranja doce. No grapefruit e na laranja azeda estão presentes

neohesperidosídeos como a naringina. O perfil cromatográfico dos glicosídeos intactos pode ser usado a fim de identificar a origem botânica das frutas e dos seus produtos e também monitorar a adulteração (Tomás-Barberán e Clifford, 2000).

Os rutinosídeos de flavanona não possuem sabor mas os neohesperidosídeos são muito amargos e responsáveis pelo amargor da laranja e do grapefruit. Os glicosídeos amargos de neohesperidina podem ser transformados na sua correspondente dihidrochalcona via tratamento alcalino, seguido de hidrogenação. Por sua vez, a neohesperidina dihidrochalcona é um adoçante forte, não-cariogênico e hipocalórico adotado na Comunidade Européia e nos Estados Unidos como aditivo alimentar (Tomás-Barberán e Clifford, 2000).

A distribuição das flavanonas no fruto não é muito uniforme, apresentando uma concentração maior nas partes sólidas quando comparado com o suco. A concentração de naringina, flavanona glicosilada, é alta nas folhas jovens e na polpa (albedo) dos frutos imaturos (Drewnowski and Gomez-Carneros, 2000). A casca dos cítricos é o tecido mais rico, mas à exceção de alguns produtos como as conservas que contêm a casca, muito pouco flavedo é consumido (Tomás-Barberán e Clifford, 2000).

2.2.3 Flavonas e flavonóis

Os flavonóides mais variados e mais abundantes estão representados pelos grupos das flavonas e dos flavonóis, tanto na forma de glicosídeos como nas suas respectivas agliconas (Figura 11). Os glicosídeos são acumulados dentro do vacúolo central da célula vegetal. Em contraste, as agliconas altamente metiladas estão localizadas do lado de fora da superfície do vegetal e são normalmente associadas com as células epiteliais das estruturas de secreção (Stafford, 1990).

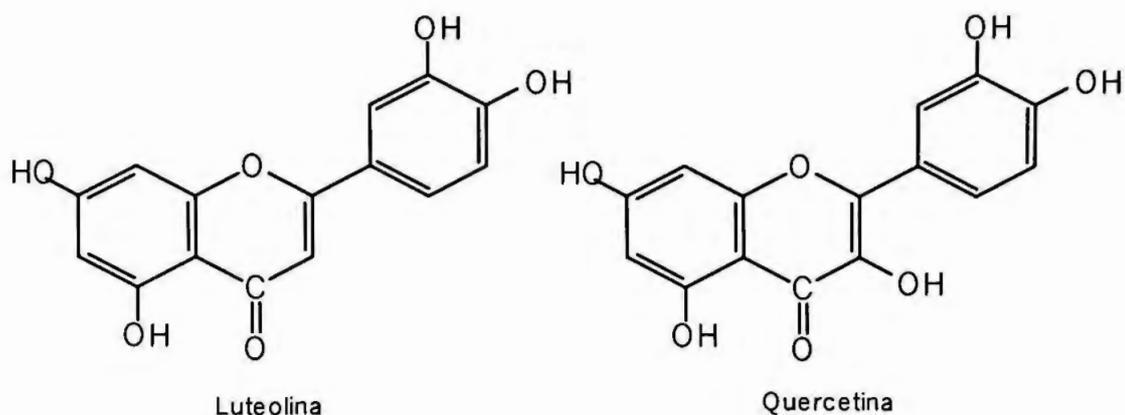


Figura 11. Estrutura básica da flavona e do flavonol

Apenas um passo é único na via das flavonas e dos flavonóis, ou seja, a conversão da dupla ligação da flavanona e/ou 3-hidroxi-flavanona para a flavona e o flavonol, respectivamente. Essa reação introduz a dupla ligação entre os carbonos 2 e 3 do anel C. Duas diferentes enzimas são capazes de introduzir a dupla ligação nas flavanonas cujo mecanismo envolve primeiro a introdução do grupo hidroxila na posição 2, seguido da remoção da molécula de água. Uma das enzimas é a flavona sintase I, uma dioxigenase solúvel e a outra é a citocromo P-450 monooxigenase microsomal, mais conhecida como flavona sintase II (Stafford, 1990).

As dioxigenases flavona sintase I e flavanona 3-hidroxi-lase requerem Fe^{2+} , 2-oxoglutarato e ácido ascórbico como cofatores para sua atuação. A flavona II requer como cofator apenas o NADPH. A naringenina é oxidada a apigenina, bem como o eridictiol é oxidado a luteolina. Uma outra dioxigenase, a flavonol sintase, necessita dos mesmos cofatores que as dioxigenases acima mencionadas para a conversão dos dihidroflavonóis em flavonóis. Desta forma, o dihidrocaempferol é convertido a caempferol assim como a dihidroquercetina em quercetina. A via biossintética dos flavonóides sofre foto-regulação e os dois grupos de enzimas são induzidos seqüencialmente pela irradiação em comprimentos de onda longos, de 320 a 350 nm (Stafford, 1990).

Estruturalmente, as flavonas apresentam substituições nos anéis A e B, mas não possuem oxigenação na posição 3 do anel C. De acordo com Iwashina (2000), elas estão normalmente presentes nos vacúolos das células na forma de O e C-glicosídeos, distribuídos desde as algas verdes aos vegetais superiores. Os glicosídeos de flavona são freqüentemente usados como marcadores quimiotaxonômicos, principalmente na família Compositae, onde muitos membros produzem apenas flavonas, como é o caso da tribo Cynareae (alcachofra). Uma das funções das flavonas nos vegetais é a de atuar como co-pigmentos das antocianinas nas flores.

Os flavonóis podem ser considerados como flavonas contendo um grupo hidroxila na posição 3, isto é, 3-hidroxi-flavonas. A grande maioria dos glicosídeos de flavonóis, distribuídos desde as briófitas até os vegetais superiores, encontra-se presente na forma de O-glicosídeos e muito raramente na forma de C-glicosídeos (Iwashina, 2000).

2.2.4 Taninos condensados e flavanóis

As proantocianidinas (taninos condensados) são comumente referidas como o menor grupo de flavonóides, o que não é verdade pois elas estão presentes de forma universal em todas as gimnospermas e angiospermas, com menor quantidade nos herbáceos e algumas famílias como Cactaceae e Chenopodiaceae (Stafford, 1990; Iwashina, 2000).

A terminologia a respeito dos componentes conhecidos como proantocianidinas e taninos condensados é confusa. O termo tanino é usado para classificar os compostos fenólicos que precipitam as proteínas e que são representados por dois grupos: os taninos condensados e os taninos hidrolisáveis. Exceto por ambos serem fenólicos e precipitarem proteínas, eles se diferenciam quimicamente e biossinteticamente. Apenas os taninos condensados são considerados flavonóides. O termo proantocianidina é confuso também porque é biossinteticamente incorreto. Este termo refere-se ao

resultado do método químico no qual as unidades de extensão são convertidas em antocianidinas quando aquecidas com butanol-HCl (Stafford, 1990).

A grande maioria das proantocianidinas pode ser dividida em subgrupos baseados nas diferenças químicas encontradas em seus anéis. Em relação ao anel A, elas podem ser subdivididas em 5-hidróxi e 5-deóxi subgrupos e em relação ao anel C elas podem ser divididas em 3-hidróxi e 3-deóxi grupos. Em cada um destes grupos o anel B pode apresentar dois ou três grupamentos hidroxilas. As proantocianidinas monoméricas ou leucoantocianidinas podem ser consideradas principalmente como intermediários na via biossintética das proantocianidinas oligoméricas e os relacionados flavan-3-óis e flavanóis. Os flavan-3-óis e as proantocianidinas oligoméricas são acumuladas na forma de agliconas, em contraste com outros grupos de flavonóides, e são solúveis o suficiente para sua manutenção no vacúolo celular sem a necessidade de glicosilação (Stafford, 1990).

O metabolismo dos flavonóides não é só regulado pelo genótipo de cada vegetal individual mas também pela interação com o meio e este controle é muito complexo na natureza. A alta incidência de luz tem sido relacionada com o aumento do nível de proantocianidinas na folhagem de vegetais presentes nas florestas assim como as cadeias de polímeros sofrem redução em sua concentração. O aumento pode estar relacionado ao aumento da demanda de carboidratos ao invés da interação direta com os pigmentos fotomorfogênicos (Stafford, 1990).

Os flavanóis (Figura 12) estão presentes nos alimentos vegetais como o chá, as frutas e as leguminosas. O chá talvez represente a mais importante fonte de flavanol, contendo epigallocatequina galato, epicatequina galato e epigallocatequina (Hollman e Arts, 2000).

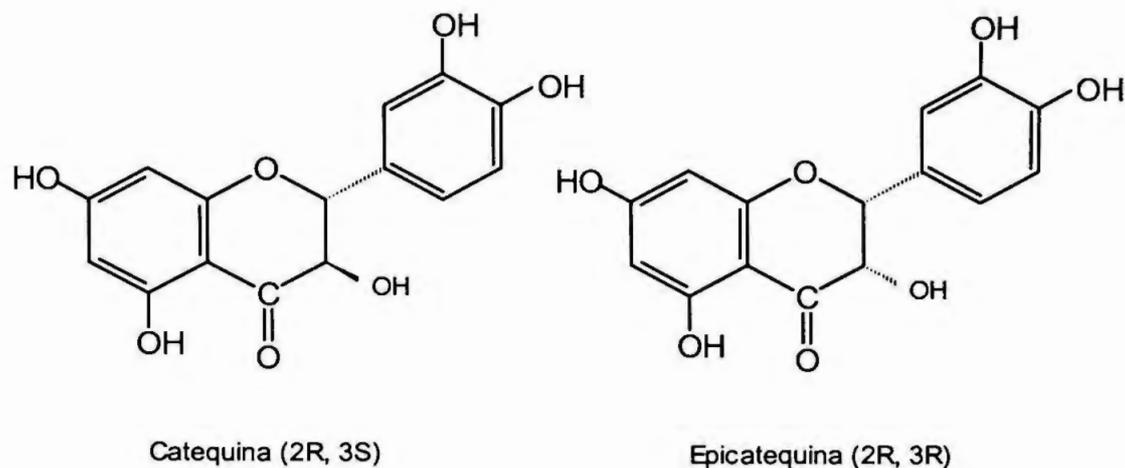


Figura 12. Estrutura básica do flavanol

2.2.5 Antocianinas

As antocianidinas (Figura 13) presentes nos vegetais são reconhecidas como o mais importante grupo de pigmentos solúveis em água. Elas podem ser encontradas nas cores azuis, roxa, vermelha e em suas formas intermediárias, dependendo do valor de pH e da presença de copigmentos (Clifford, 2000).

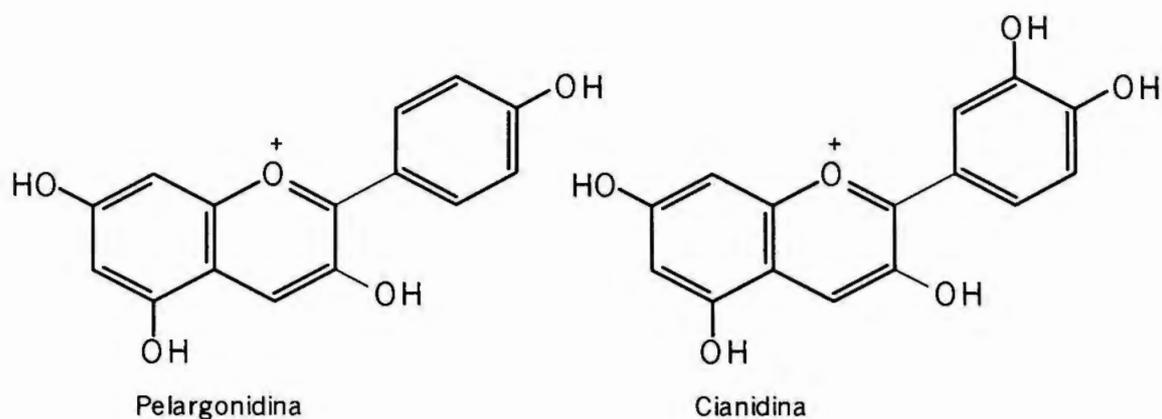


Figura 13. Estrutura básica da antocianidina

A forma estrutural química do anel A é baseada em grupamentos 5,7-hidróxi, com ocasionais grupamentos 5-metóxi e 6-hidroxil. No anel B a hidroxilação ou metilação nas posições 4'-, 3',4'- ou 3',4',5'- é muito comum. A grande maioria contém um grupamento hidroxila na posição 3 do anel C. As estruturas básicas das antocianinas são geralmente visualizadas como cátion flavílio ou sais de flavílio. Parte da dificuldade no estudo das antocianinas deve-se ao fato de que elas podem existir de formas variadas dependendo da concentração, do solvente, do pH, e da presença de metais complexantes e outros fenólicos (Stafford, 1990).

As antocianinas estão localizadas no vacúolo, em equilíbrio com quatro formas moleculares (Figura 14). Estas formas são representadas pelo cátion flavílio e as três estruturas secundárias como a base quinoidal, a carbinol pseudobase e a chalcona pseudobase (Clifford, 2000). As pseudobases, sem coloração, são estáveis e existem em equilíbrio com as formas catiônicas em soluções ácidas. Bases quinoidais são formadas em pHs elevados. As pseudobases atuam como intermediários no estágio final da biossíntese das antocianinas (Stafford, 1990).

A copigmentação com ânions orgânicos estabiliza a estrutura na sua forma colorida. O copigmento geralmente não possui cor mas contribui com o aumento da estabilidade dos cromóforos nas antocianinas (Stafford, 1990).

Diversos grupamentos podem atuar entre os quais os grupamentos acil, que incluem ácidos cinâmicos como caféico, *p*-cumárico, ferúlico e sinápico e uma série de ácidos alifáticos como o acético, málico, malônico, oxálico e succínico. Nos tecidos vegetais as antocianinas adotam uma estrutura terciária para a proteção dos ataques nucleofílicos pela água e que produz efeitos hiper-crômicos e batocrômicos (Clifford, 2000).

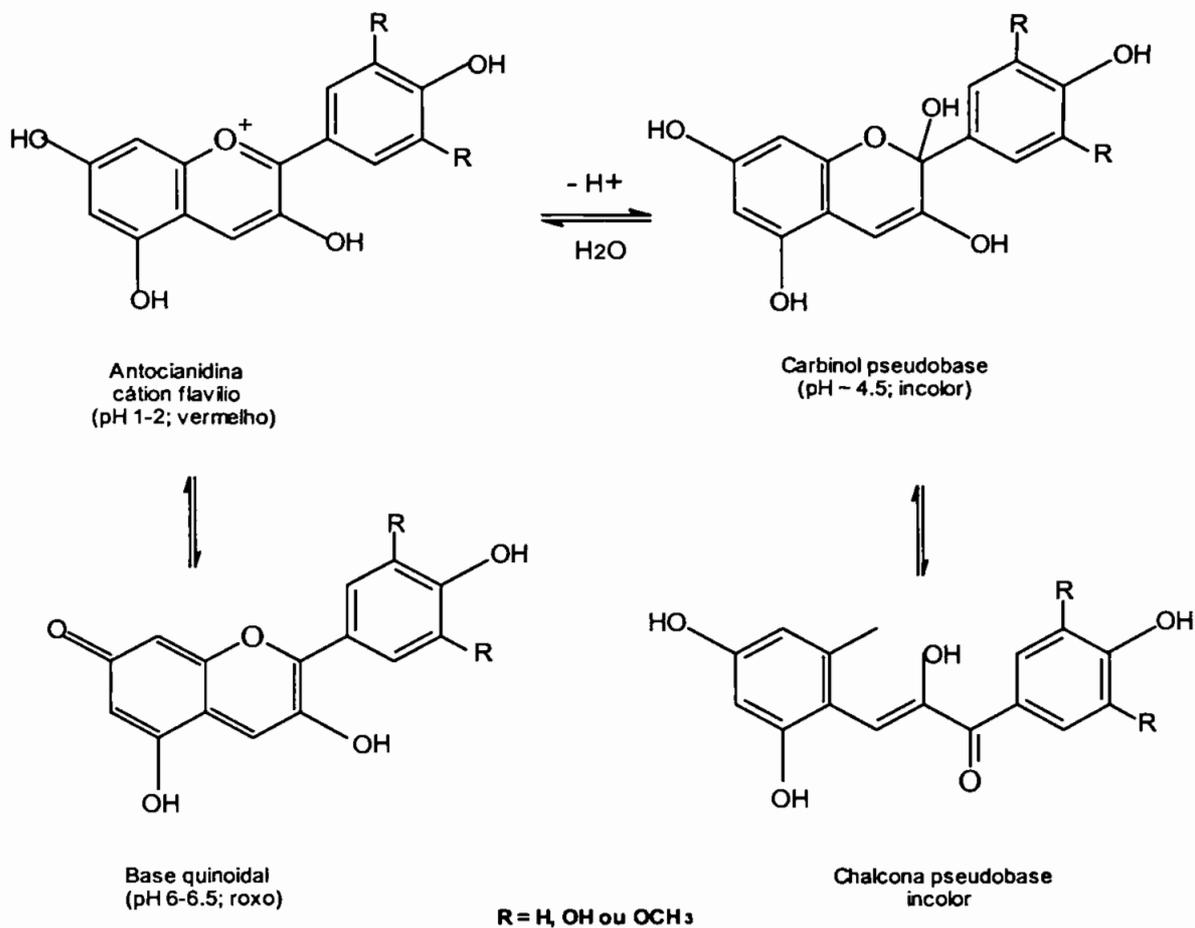


Figura 14. Esquema geral dos equil\u00edbrios que ocorrem com o c\u00e1tion flav\u00edlio, quando se muda o pH do meio (adaptado de Stafford, 1990)

A extra\u00e7\u00e3o do suco quebra o meio e causa uma destrui\u00e7\u00e3o da prote\u00e7\u00e3o dessa estrutura terci\u00e1ria, exceto para os casos em que as antocianinas estejam acetiladas e que a copigmenta\u00e7\u00e3o seja intramolecular. A acila\u00e7\u00e3o (*p*-cumaroil) do glicos\u00eddeo aumenta a estabilidade e a intensidade da cor nas formas quinoidais (Clifford, 2000).

Com rela\u00e7\u00e3o \u00e0 glicosila\u00e7\u00e3o, as 3-hidr\u00f3xi-antocianidinas s\u00e3o mais comumente encontradas em suas formas mais est\u00e1veis O-glicosiladas do que

na forma de agliconas. O glicosídeo na posição 3 é a forma mais primitiva e talvez o primeiro passo para a via dos outros glicosídeos, sendo a glicose o substituinte mais comum (Clifford, 2000).

De acordo com Stafford (1990), para a biossíntese das antocianinas a especificidade do substrato irá variar de acordo com as diferentes fontes. A redutase presente na *Petunia hybrida* oxidou a dihidromiricetina mais eficientemente do que a dihidroquercetina e não reagiu com o dihidrocaempferol. A enzima do milho, por outro lado, oxidou predominantemente dihidrocaempferol e dihidroquercetina.

As antocianidinas mais comuns são a pelargonidina, malvidina, cianidina, peonidina, delphinidina e petunidina. Apesar de estarem presentes na grande maioria dos vegetais superiores estes componentes estão completamente ausentes em algumas famílias dentre as quais Amaranthaceae, Cactaceae, Chenopodiaceae (Iwashina, 2000). As antocianinas são encontradas nas folhas e em diversos outros tecidos mas predominam nas pétalas das flores, o que pode ser esperado, já que a síntese é dependente de luz. Algumas antocianinas azuladas são encontradas no mesofilo de alguns membros das famílias Boraginaceae e Liliaceae (Stafford, 1990). Nos alimentos vegetais as antocianinas são encontradas em especiarias como o basílico, em frutas como a uva, laranja vermelha, amora e morango, no repolho roxo, na alface roxa e na casca da batata doce (Clifford, 2000).

As culturas de células têm sido muito úteis na pesquisa das antocianinas com relação aos efeitos dos hormônios vegetais para a sua formação. Um dos estudos observou que o ácido giberélico inibiu a síntese de antocianinas em suspensão de cultura de células de *Daucus carota* (cenoura) no nível da chalcona sintase (Stafford, 1990).

2.2.6 Isoflavonas

As isoflavonas apresentam uma distribuição muito limitada, principalmente nas leguminosas e diferem de outros grupos de flavonóides devido à sua estrutura básica característica, na qual o anel B é anexado ao carbono 3 ao invés do carbono 2 (Iwashina, 2000).

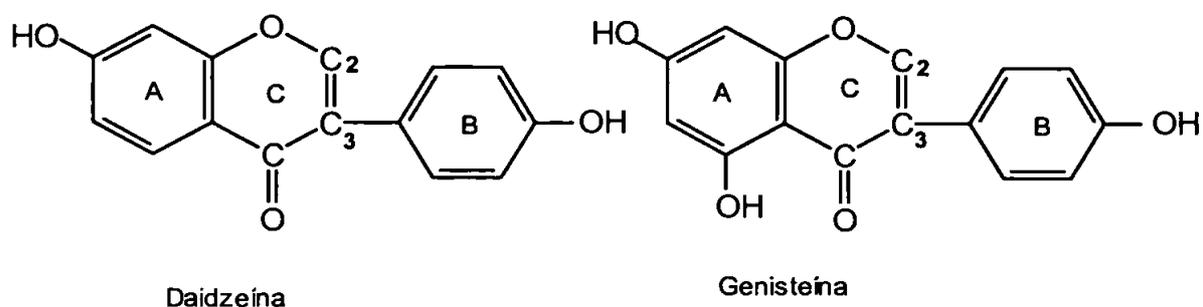


Figura 15. Estrutura básica da isoflavona

O que difere este grupo em relação aos outros flavonóides é a migração do anel B na posição 2 para a posição 3 do grupamento fenila do anel C (Figura 15). Os representantes das isoflavonas derivam da 5-hidróxiisoflavona, a genisteína e da 5-deóxiisoflavona, a daidzeína. Dois tipos de anéis A podem ser encontrados na biossíntese das isoflavonas; o mais comum 5,7 dihidróxi e o tipo mais raro 5-deóxi. Grupamentos prenila podem ser adicionados ao anel A e o anel B pode conter uma variedade de hidroxilas, metoxilas, fenilas e outras adições (Stafford, 1990).

Em relação à biossíntese das isoflavonas foi observado que a separação dos dois tipos de anéis ocorre nos estágios iniciais. Estudos com isótopos do grão-de-bico mostraram que uma única chalcona com hidroxilação apropriada no anel A, do tipo 2',4',6' ou 2',4' hidróxi pode ser incorporada à biochanina A

(5-hidróxi) e formononetina (5-deóxi) respectivamente. A redução da hidroxila é necessária para os isoflavonóides 5-deóxi antes do fechamento do anel A. Em outro estudo envolvendo precursores isotopicamente marcados do trevo vermelho foi verificado que a 2'-hidroxilação pode ocorrer tanto no nível da isoflavona como no nível da isoflavanona, na forma de interconversões (Stafford, 1990).

Os dois grupos de isoflavonas (5-hidróxiisoflavona e 5-deóxiisoflavona) aparentemente usam a mesma chalcona sintase, associada com a redutase para produzir os compostos 5-deóxi. Dois tipos de chalcona isomerases são encontrados: a isomerase presente nas leguminosas como *Phaseolus vulgaris* (que contém tanto 5-hidróxi como 5-deóxi produtos) catalisa a isomerização de 6' hidróxi e também de 6' deóxi-chalconas enquanto a isomerase presente na flor *Petunia hybrida* sintetiza apenas 5-hidroxi-flavanóides através da 6' hidróxi-chalcona. A isomerase isolada da soja é altamente estereo-seletiva produzindo 99,999% de (2S)-flavanona, que é convertida a genisteína numa reação com preparação microsomal usando como cofatores NADPH e oxigênio molecular. Essa mesma preparação microsomal também é capaz de converter (2S)-liquiritigenina (5,4'-dihidroxi-flavanona) em daidzeína na presença de NADPH. Não está especificada se a mesma isoflavona sintase está envolvida nestas conversões (Stafford, 1990).

Segundo Stafford (1990), a foto-regulação das isoflavonas difere dos outros grupos de flavonóides. Existem evidências de que comprimentos de onda ultravioleta (300 nm) induzem a síntese nas leguminosas mas isto pode danificar o DNA causando a formação de dímeros de pirimidina. Esta síntese pode ser revertida através da irradiação de luz branca e azul. A grande maioria dos estudos a respeito da regulação dos isoflavonóides que envolvem as leguminosas são baseados nas suas funções como fitoalexinas e os efeitos dos fungos eliciadores como componentes secundários.

2.3 Atividade Biológica dos flavonóides

2.3.1 Função dos flavonóides nos vegetais

Os compostos coloridos como as antocianinas atraem pássaros, insetos e animais, os agentes de polinização e dispersão das sementes (Vickery e Vickery, 1981). De acordo com Harborne (2000), a coloração azul nas pétalas das flores é devido à presença da antocianina delphinidina, sendo a cor azul a mais atrativa para insetos como as abelhas polinizadoras.

As antocianinas e demais flavonóides atuam como filtros da luz ultravioleta. A radiação ultravioleta, por convenção, foi dividida em três bandas, cada qual com sua energia característica e diferenciada. Dentre as três bandas a radiação ultravioleta é a banda de maior energia e menor comprimento de onda. Os flavonóides geralmente absorvem na região compreendida entre 280-315 nm, atuando como filtros ultravioleta além de proteger os tecidos dos danos causados pela radiação. Os flavonóides freqüentemente citados como os mais efetivos filtros protetores são os glicosídeos de flavonas e flavonóis, os quais absorvem mais fortemente na região compreendida entre 280-370 nm (Harborne, 2000).

Dentre a maioria dos flavonóides reconhecidos como agentes antimicrobianos nos vegetais estão os isoflavonóides, os flavanóis e as flavanonas. Alguns flavonóides apresentam atividade inibitória contra os vírus, enquanto outros exercem inibição nas enzimas necessárias para a replicação viral, atuando como antibióticos efetivos (Vickery e Vickery, 1981; Harborne, 2000).

Os flavonóides, dentre outros polifenóis, atuam na proteção dos vegetais contra insetos e mamíferos herbívoros. Algumas classes de flavonóides oferecem resistência ao ataque dos nematóides. Uma das mais importantes funções das isoflavonas está na proteção contra invasores, sendo capazes de interagir com os insetos ftófagos (Vickery e Vickery, 1981; Harborne, 2000).

2.3.2 Atividade antioxidante dos flavonóides

Uma diversidade de estudos *in vitro* tem mostrado que os flavonóides podem inibir e, às vezes, induzir uma grande variedade de enzimas, envolvidas em importantes processos reguladores como a divisão e proliferação celular, agregação plaquetária, detoxificação, atuação da resposta inflamatória e imune do organismo humano. Em virtude de sua propriedade antioxidante *in vitro* e sua ação inibitória durante vários estágios do desenvolvimento de tumor em estudos experimentais com animais, os flavonóides podem contribuir com os efeitos protetores atribuídos aos alimentos vegetais, entre os quais proteção aos tecidos contra os radicais livres e peroxidação lipídica, estes últimos envolvidos em sérias condições patológicas como aterosclerose, câncer e inflamação crônica (Hollman e Katan, 1997a; Hollman e Katan, 1999).

De acordo com Soares (2002), a oxidação nos sistemas biológicos ocorre devido à ação dos radicais livres no organismo gerados por fontes exógenas ou endógenas. As fontes exógenas geradoras de radicais livres incluem tabaco, poluição do ar, solventes orgânicos, pesticidas. As fontes endógenas originam-se de processos biológicos que normalmente ocorrem no organismo como resultado da atividade das lipoxigenases, ciclogêneses, desidrogenases, peroxidases; da presença de metais de transição e de sistemas de transporte. Na geração de radicais estão envolvidas organelas celulares como as mitocôndrias, lisossomos, peroxissomos e membranas. A variedade de radicais livres formados engloba radicais do oxigênio como o íon superóxido ($O_2^{\cdot-}$), hidroxila (OH^{\cdot}), peróxido de hidrogênio (H_2O_2), oxigênio singlete (1O_2); complexos de metais de transição como Fe^{+3}/Fe^{+2} e Cu^{+2}/Cu^{+} ; radicais de carbono como triclorometil (CCl_3^{\cdot}), assim como radicais de nitrogênio como o óxido nítrico (NO^{\cdot}).

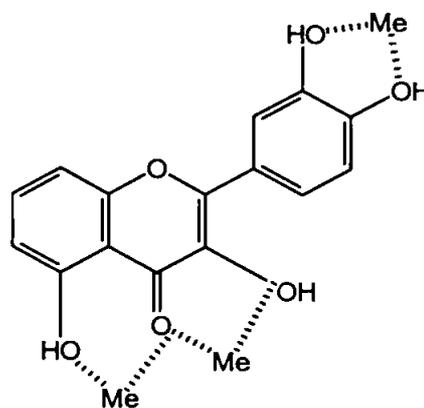
As moléculas de radicais livres desencadeiam reações de oxidação na membrana lipoprotéica que afetarão a integridade estrutural e funcional da membrana celular. Os antioxidantes inibem a oxidação através de dois

mecanismos: o primeiro envolve a inibição da formação dos radicais e o segundo envolve a eliminação dos radicais formados através da doação de átomos de hidrogênio a estas moléculas, interrompendo a cadeia de reação. Os antioxidantes fenólicos (Figura 16) atuam como seqüestradores de radicais e como quelantes de metais (Soares, 2002).

O potencial antioxidante e de inibição da peroxidação lipídica exercido pelos flavonóides deve-se à atuação predominante da capacidade seqüestradora de radicais livres em relação à atuação quelante de metais. Esta propriedade sozinha não implica um efeito benéfico uma vez que ocorre a formação de um radical flavonóide. Um radical flavonóide muito reativo irá propagar os efeitos deletérios iniciados pelo ataque do radical. Entretanto, um radical flavonóide com alta estabilidade não irá reagir e, como consequência, este flavonóide irá atuar como antioxidante (Hollman e Katan, 1997a).

Três grupos estruturais aumentam a estabilidade do radical flavonóide e de sua propriedade antioxidante: a presença de grupamentos hidroxilas no anel B; a presença da dupla ligação no anel C (heteroanel), além da presença de grupamentos hidroxilas nas posições 3 e 5 do anel A. Os flavonóis são mais potentes do que as respectivas flavonas devido à presença da hidroxila nesta posição. A presença de hidroxila na posição 2' do anel A das hidrochalconas possibilita sua atuação antioxidante de maneira mais potente em relação às suas respectivas flavanonas (Nakamura *et al.*, 2003). As flavanonas são antioxidantes fracos devido à ausência da dupla ligação (Robards *et al.*, 1999; Pietta, 2000). A quercetina, 3,5,7,3',4'-pentahidroxiavona, uma das maiores representantes dos flavonóis, apresenta os três grupos estruturais e é considerada excelente antioxidante (Hollman e Katan, 1997a).

Sítios de ligação metais-traços



Seqüestro de radicais livres

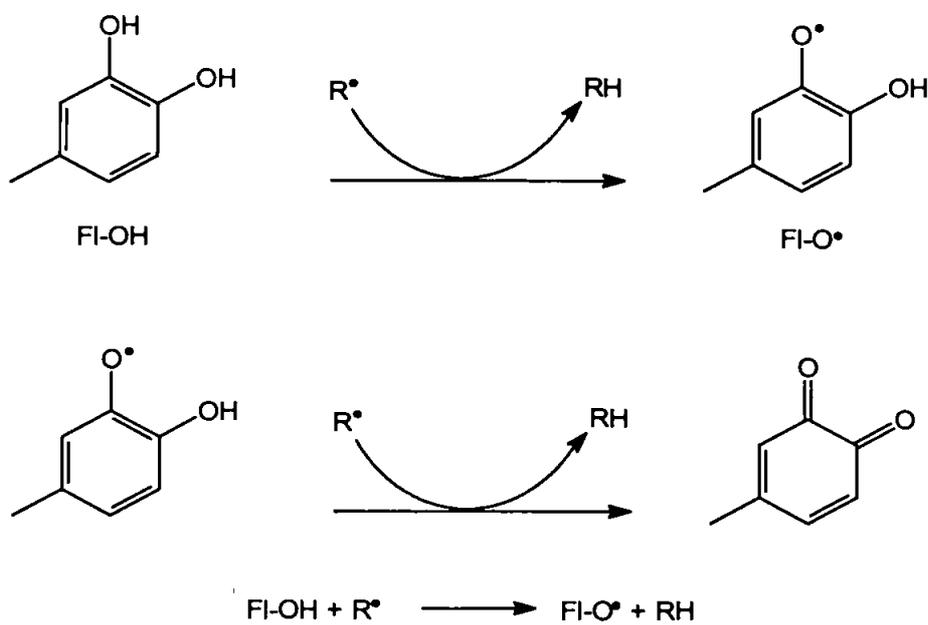


Figura 16. Atuação dos flavonóides (adaptada de Pietta, 2000)

A glicosilação reduz consideravelmente a capacidade seqüestradora em flavonóides como a rutina. Um grupamento hidroxila adicional no anel B aumenta a atividade antioxidante, exemplificado pelo flavonol miricetina. As antocianidinas e seus glicosídeos são eqüipotentes à quercetina e aos galatos de catequina e a remoção do grupamento 3'-hidroxila do anel B, como na pelargonidina, reduz a capacidade antioxidante ao mesmo nível do caempferol. No caso das isoflavonas a localização do anel B na posição 3 do anel heterocíclico afeta sensivelmente a capacidade seqüestradora. Desta forma, a genisteína é cerca de duas vezes mais potente do que a sua relativa flavona, a apigenina (Pietta, 2000).

A atividade antioxidante cresce com o aumento do número de hidroxilas substituintes no anel B para as antocianidinas, sendo o contrário observado para as catequinas. Um aumento nas unidades de glicose na posição 3 das cianidinas resultaram em diminuição da atividade antioxidante. A delphinidina, a cianidina, a epicatequina e a catequina estão entre as melhores estruturas com aplicações biológicas antioxidantes (Seeram e Nair, 2002).

2.3.3 Estudos Epidemiológicos

Em geral, estimar a ingestão total de flavonóides é difícil devido aos limitados dados disponíveis sobre o conteúdo dos flavonóides nos alimentos vegetais. Hertog *et al.* (1992, 1993b) determinaram os teores de flavonóis e flavonas comumente consumidos na dieta da população da Holanda. Cerca de 48% do total da ingestão de flavonóides foram obtidos pelo chá, seguido das cebolas (29%) e das maçãs (7%). Estes dados foram usados em estudos prospectivos a fim de relacionar a ingestão dos flavonóides com as doenças cardiovasculares e o câncer (Hollman *et al.*, 1996; Hollman e Katan, 1997a).

a) Flavonóides e o câncer

No estudo intitulado *Zutphen Elderly Study* foi calculada a ingestão de flavonóis e flavonas em cerca de 26 mg/dia, numa população total de 805

homens com idades entre 65 a 84 anos, moradores da cidade de Zutphen, na Holanda. As maiores fontes alimentares de flavonóis e flavonas foram o chá com cerca de 61% do total da ingestão, seguido das cebolas, com 13% e das maçãs, com 10% (Hollman *et al.*, 1996). Após cinco anos, seus dados de saúde foram coletados e os dados de morbidade e mortalidade foram analisados. Nenhuma associação entre a ingestão de flavonol e flavona com a mortalidade total de câncer foi estabelecida (Hollman e Katan, 1999). A metodologia do *Zutphen Elderly Study* foi aplicada também ao *Seven Countries Study*, envolvendo os seguintes países: Croácia, Finlândia, Itália, Grécia, Japão, Sérvia, Holanda e os Estados Unidos (Peterson e Dwyer, 1998a). A ingestão de flavonóis e flavonas variou entre cerca de 3 mg/dia na Finlândia a 70 mg/dia no Japão (Hollman *et al.*, 1996; Hollman e Katan, 1999).

De acordo com a revisão realizada por Hollman e Katan (1999), no estudo realizado na Holanda, numa população total de 12.850 homens e mulheres com idades entre 55 e 69 anos, também não foi estabelecida nenhuma associação entre a ingestão de flavonol e flavona e diferentes tipos de câncer durante os quatro anos do estudo.

No estudo envolvendo cerca de dez mil homens e mulheres com idades entre 15 e 99 anos, realizado na Finlândia, foi observado que houve cerca de 50% de redução de risco especificamente no câncer de pulmão, sem redução em nenhum dos outros sítios de câncer, após 24 anos de estudo (Hollman e Katan, 1999).

b) Flavonóides e as doenças cardiovasculares

A mortalidade devido às doenças cardiovasculares foi inversamente associada à ingestão de flavonol e flavona em cerca de 50%, de acordo com o estudo realizado em Zutphen. Também foi avaliada, ao longo de 15 anos, a associação entre a ingestão destes flavonóides e o risco de derrame, envolvendo 550 homens de meia-idade. Observou-se cerca de 60% de redução do risco da doença para os homens que ingeriram mais do que 30 mg de

flavonóides por dia (Hollman e Katan, 1997a; 1999).

No estudo realizado na Finlândia, com duração de 20 anos, que envolveu cerca de 5.130 homens e mulheres com idades entre 30 e 69 anos, foi observada uma fraca associação entre a ingestão de flavonóides e mortalidade por doença coronariana (Hollman e Katan, 1997a; Hollman e Katan, 1999).

De acordo com Hollman e Katan (1997a, 1999), a mortalidade devido às doenças cardiovasculares nos trabalhadores do sexo masculino da área da saúde foi inversamente associada à ingestão de flavonol e flavona apenas nos homens que apresentaram histórico anterior de doença coronariana.

Em geral, os estudos epidemiológicos evidenciaram os efeitos protetores dos flavonóis com relação às doenças cardiovasculares. No entanto, com relação ao câncer, apenas em um estudo houve redução aparente da incidência de câncer de pulmão.

Arai *et al.* (2000) calcularam a ingestão de flavonóis, flavonas e isoflavonas em 115 mulheres japonesas com idades entre 29 e 78 anos, de acordo com os dados de consumo local. A média de ingestão de flavonóides (flavonóis e flavonas) e de isoflavonas foi de 16,7 e 47,2 mg/dia, respectivamente. As maiores fontes de flavonóis e flavonas foram as cebolas (46%) e de isoflavonas, o tofu (37%). Verificou-se que o total de ingestão de flavonóides foi inversamente relacionado com a concentração plasmática de colesterol total e de lipoproteína de baixa densidade (LDL). Estes resultados sugerem que o consumo elevado de flavonóides podem contribuir com a baixa incidência de doença coronariana nas mulheres japonesas quando comparado com as mulheres de outros países.

2.3.4 Biodisponibilidade dos flavonóides

As informações acerca da absorção dos flavonóides presentes na dieta são consideradas pré-requisitos para se estabelecer a relação entre os flavonóis e a doença coronariana. A absorção dos flavonóides da dieta foi muitas vezes negligenciada porque eles geralmente estão ligados aos

carboidratos na forma de β -glicosídeos, cuja ligação é resistente à hidrólise pelas enzimas pancreáticas, sendo considerados não absorvíveis pelo organismo. Alguns microrganismos do cólon podem mediar a hidrólise, mas ao mesmo tempo eles degradam a aglicona liberada. Apenas são consideradas absorvíveis as agliconas respectivas (Hollman *et al.*, 1997b).

Hollman *et al.* (1995) determinaram a absorção de quercetina administrada em nove indivíduos ileostomizados e verificaram que a absorção dos glicosídeos de quercetina presentes no suplemento alimentar preparado à base de cebolas foi de 52%, a absorção da quercetina na forma de aglicona, administrada oralmente foi de 24% e a absorção da quercetina rutinosídeo, presente no chá, foi de 17%. Eles observaram que a quercetina presente nas cebolas é melhor absorvida do que a aglicona pura. A absorção do glicosídeo presente nas cebolas pode ser explicada através do mecanismo de transporte ativo (sódio/glicose).

Hollman *et al.* (1997b) compararam a biodisponibilidade dos glicosídeos de quercetina presentes nas cebolas, nas maçãs e no chá, através da análise dos níveis plasmáticos de quercetina em indivíduos saudáveis. Eles observaram que a biodisponibilidade dos glicosídeos de quercetina presentes na maçã e dos rutinosídeos presentes no chá, com relação aos glicosídeos presentes nas cebolas foi de 30%. A maior diferença encontrada entre as fontes alimentares foi devido ao tipo de glicosídeo. A quercetina presente nas cebolas foi rapidamente absorvida enquanto a quercetina 3-rutinosídeo, presente no chá, foi lentamente absorvida. A taxa de absorção dos glicosídeos de quercetina presentes nas maçãs foi intermediária. Estes resultados demonstram a importância do tipo de molécula de carboidrato com relação à absorção e biodisponibilidade de quercetina no organismo humano.

2.3.5 Atividade bioquímica *in vitro*

De acordo com a revisão realizada por Peterson e Dwyer (1998a) a atividade antioxidante de diversos grupos de flavonóides tem sido determinada

em sistemas de peroxidação lipídica. Além da quercetina e rutina, a apigenina, o caempferol e a luteolina mostraram atividade antioxidante. Flavanonas como hesperidina, naringenina e naringina demonstraram pouca atividade antioxidante nestes sistemas. Entretanto, alguns estudos demonstraram que os flavonóides apresentam atividade pró-oxidante, em altas concentrações e em presença de Fe^{+3} . Cao *et al.* (1997) verificaram que as flavonas, isoflavonas e flavanonas atuam como antioxidantes contra os radicais hidroxil e peroxil, além de atividade pró-oxidante em presença de Cu^{+2} .

A quercetina é o flavonóide mais envolvido nos estudos de mutagenicidade. Em geral, os flavonóides inibem as enzimas da fase 1 que ativam os carcinógenos, inibem a proliferação de células cancerígenas e a ligação estrogênica aos sítios envolvidos na regulação das células de crescimento. A quercetina também inibe a citocromo P_{450} sintetase estrógeno dependente, além da atividade da ciclo-oxigenase, lipoxigenase e xantina oxidase. A apigenina, o caempferol, a naringenina, e a rutina também podem inibir a lipoxigenase. A quercetina, a genisteína e a rutina atuam na proteção contra a injúria celular causada pela oxidação do LDL, inibindo a oxidação da lipoproteína e protegendo as células dos danos citotóxicos causados pelo LDL oxidado (Peterson e Dwyer, 1998a, Visioli *et al.*, 2000).

2.3.6 Atividade bioquímica *in vivo*

Em estudos experimentais realizados em animais foi demonstrado que o processo de formação do câncer pode ser modulado por uma variedade de compostos. Nestes estudos, potentes carcinógenos foram usados para induzir o câncer. Compostos fenólicos naturalmente presentes nos vegetais também foram administrados, os quais interferiram em todos os estágios de formação do câncer, reduzindo potencialmente o risco do câncer (Hollman, 2001). Birt *et al.* (2001) observaram que a genisteína e a daidzeína reduziram o número de tumores experimentalmente induzidos em macacos.

Diversos mecanismos de ação têm sido atribuídos aos flavonóides para

explicar seus efeitos no metabolismo lipídico. Um destes envolve suas ações no aumento da excreção de sais biliares nas fezes e outro estudo sugere que haja aumento da atividade dos receptores de LDL. A avaliação do efeito dos flavonóides sobre a redução do colesterol em ratos hiperlipidêmicos obteve como melhores resultados os flavonóides quercetina, rutina e naringenina (Oliveira *et al.*, 2002).

No entanto, Hollman (2001) questiona a validade dos modelos *in vitro* e *in vivo* para analisar o desenvolvimento de doenças cardiovasculares e o câncer em humanos. Ele contesta a validade dos experimentos uma vez que os carcinógenos são usados em altas concentrações nestes estudos. Além do mais, as concentrações efetivas dos fenólicos são muito altas, o que não ocorreria nos tecidos ou corpo humano.

Skibola e Smith (2000) contestam sobre a ingestão segura dos flavonóides ao questionarem os efeitos do consumo de flavonóides em altas doses por longos períodos. Eles confirmam que a concentração do flavonóide capaz de induzir mutações ou citotoxicidade não é fisiologicamente alcançada através das fontes dietéticas, porém afirmam que o uso de suplementos como as fórmulas antioxidantes e as misturas herbais, normalmente recomendadas em doses de g/mg podem resultar numa exposição a níveis potencialmente tóxicos.

2.4 Efeitos do processamento

A composição dos flavonóides pode ser afetada sensivelmente durante o processamento doméstico e industrial. O processamento pode causar perda e degradação dos flavonóides ou produzir alterações químicas que afetam as características de qualidade.

Ao comermos uma maçã, geralmente a semente é descartada e a grande maioria das dihidrochalconas não é ingerida. Se os frutos forem descascados, o conteúdo ingerido das chalconas torna-se menor, ainda. A manipulação dos frutos pode causar a redução em cerca de 20 a 40% do teor das

dihidrochalconas (Tomás-Barberán e Clifford, 2000).

O processamento doméstico do cozimento de brócolis, cebolas, feijões e algumas frutas exemplifica a perda de flavonóides, podendo chegar à redução de cerca de 50% do conteúdo inicial, como é o caso do espinafre (Price *et al.*, 1998; Ewald *et al.*, 1999; Gil *et al.*, 1999). Crozier *et al.* (1997) estudaram o efeito do processamento nas cebolas e nos tomates e verificaram que o aquecimento a altas temperaturas como a fervura reduziu o conteúdo de quercetina em 80%, a cocção no microondas em 65% e o resfriamento em cerca de 30%. Price *et al.* (1998) verificaram que cerca de 14 a 28% dos flavonóides ficam retidos no brócolis após o cozimento.

Häkinnen *et al.* (2000) ao estudarem a influência do processamento nas frutas como o morango e o mirtilo verificaram perdas de flavonóides em cerca de 15 a 18% para o morango e de 40% para o mirtilo.

Entretanto, Amakura *et al.* (2000) ao analisarem a influência do processamento de obtenção de geléia no conteúdo fenólico de frutas como o morango, o mirtilo e a framboesa verificaram que não houve alterações apreciáveis nos teores de fenólicos com relação ao conteúdo dos mesmos nas frutas frescas.

O processamento industrial para a obtenção de sucos de frutas, por exemplo suco de romã (Gil *et al.*, 2000), assim como a radiação, utilizada em culturas de uvas a fim de aumentar o conteúdo de compostos fenólicos (Cantos *et al.*, 2000) são algumas das técnicas industriais que promovem a manutenção ou favorecem a concentração destes compostos nos alimentos vegetais.

Nos sucos comerciais, o conteúdo de dihidrochalconas pode ser cinco a dez vezes maior do que o obtido na extração doméstica, visto que a indústria processa o fruto inteiro (incluindo sementes, caroço e casca), além de usar um tratamento térmico para a inativação das enzimas (polifenoloxidasas) que direta ou indiretamente, degradam as dihidrochalconas presentes nos sucos feitos em casa (Tomás-Barberán e Clifford, 2000).

Devido à tendência à precipitação observada nas flavanonas e a

necessidade da clarificação nos extratos de sucos antes da análise, a ressolubilização dos precipitados com solventes fortes é necessária para a obtenção dos dados de composição. Estes precipitados são formados durante a extração do material para análise e também durante o processamento comercial dos sucos de frutas. A grande maioria deste material insolúvel pode ser consumida e a ingestão destes flavonóides pode ser subestimada (Tomás-Barberán e Clifford, 2000).

O processo industrial de obtenção de suco de maçã e de uva diminui o conteúdo de flavanóis através do "crushing" e da pressão, do armazenamento do suco concentrado à temperatura ambiente, além da clarificação através do tratamento com carbono ativado (Hollman e Arts, 2000).

Várias transformações podem ocorrer durante o processamento industrial ou doméstico nos alimentos que contêm antocianinas produzindo pigmentos amarelos ou marrons que não são característicos. Ações mecânicas como descascar, cortar e fatiar causam danos físicos ao romperem as membranas e liberarem uma mistura de enzimas e substratos, previamente separados em compartimentos. Tais enzimas podem ser inativadas pelo aquecimento mas as altas temperaturas alteram o equilíbrio com a chalcona e estas alterações ocorrem na produção das geléias e durante o armazenamento, dependendo das condições do meio (Clifford, 2000).

Baixas temperaturas (-20 °C) podem ser utilizadas para armazenar durante longo período algumas frutas como o morango a fim de prevenir a ação das enzimas e preservar a qualidade do fruto (Häkinnen *et al.*, 2000). Além do mais, o emprego de atmosfera enriquecida com dióxido de carbono tem sido realizado com sucesso para prolongar a estabilidade das antocianinas presentes no morango, de acordo com Gil *et al.* (1997).

2.5 Métodos de análise de flavonóides

De acordo com a revisão feita por Merken e Beecher (2000), diversos

sistemas têm sido desenvolvidos para a detecção e identificação dos flavonóides entre uma, duas ou até três subclasses. A cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE) foi considerada a melhor opção como metodologia analítica. As colunas cromatográficas são exclusivamente de fase reversa, variando entre 100 a 300 mm de comprimento e 4,6 mm de diâmetro interno. A eluição nos sistemas é normalmente binária constituída de uma solução polar A, geralmente aquosa e acidificada com ácido acético, perclórico, fosfórico ou fórmico e solução B, menos polar, geralmente um solvente orgânico como metanol ou acetonitrila, possivelmente acidificado. Ocasionalmente o tetrahidrofurano e o 2-propanol são usados como solventes não polares.

Em 1998, o Instituto Nacional de Tecnologia e Padrões (NIST) verificou que o uso do ácido trifluoracético nos dois solventes aumenta a resolução e elimina a cauda do pico para as catequinas. Estudos em CLAE, realizados por Mattila *et al.* (2000) indicaram que o solvente compreendendo uma mistura de acetonitrila e tampão providenciou uma separação mais eficiente do que o sistema metanol-tampão, devido a uma redução na pressão da bomba e da coluna.

Em geral, o tempo das corridas é no máximo de uma hora, com equilíbrio entre elas. As colunas são controladas termostaticamente e mantidas normalmente em ambientes com variações de temperatura mínimas. As taxas de fluxo estão entre 1,0 a 1,5 mL/min e o volume das injeções entre 1 a 100 μ L (Merken e Beecher, 2000).

A absorção na região do ultravioleta (UV- visível) é a técnica mais usada para a análise de estrutura dos flavonóides, auxiliando tanto na identificação do tipo, além de fornecer a definição do padrão de oxigenação (Markham, 1982). Os fenóis geralmente absorvem luz na região do ultravioleta (UV) e os flavonóides são caracterizados por duas bandas de absorção: os substituintes no anel A afetam a banda II, que absorve comprimentos entre 240-285 nm e os substituintes no anel B afetam a banda I, que absorve comprimentos entre 300-550 nm. As antocianinas absorvem comprimentos de onda na banda I e na

banda II, entre 265-275 e 465-560 nm, respectivamente, mas seus comprimentos de onda específicos estão entre 502-525 nm (Merken e Beecher, 2000).

Devido à pouca ou inexistente conjugação entre os anéis A e B, o espectro UV das flavanonas e isoflavonas possui um pico extenso na banda II e um pequeno pico na banda I. As flavanonas e seus glicosídeos são geralmente detectados entre 280-290 nm. As isoflavonas são detectadas entre 236-280 nm. A conjugação inexistente resulta também num pequeno pico na banda I para as catequinas que apresentam a melhor detecção entre 210-280 nm. As flavonas e os flavonóis possuem picos na banda II entre 240-280 nm e na banda I entre 300-380 nm, com detecção entre 280-350 nm (Merken e Beecher, 2000).

Sabe-se que as detecções por arranjo de diodo (DAD) e eletroquímicas (EC) produzem diferentes tipos de dados que podem ser usados na identificação dos picos. De acordo com o trabalho realizado por Mattila *et al.* (2000) no qual os dois tipos de detecção foram realizados simultaneamente, constatou-se que o método CLAE-EC foi melhor empregado na quantificação das catequinas, com resposta em cerca de 75-100 vezes mais alta em relação ao DAD. No caso dos outros grupos de flavonóides o método CLAE-DAD foi suficientemente sensível para a quantificação.

A grande maioria dos trabalhos realizados para determinação dos flavonóides nos alimentos vegetais utiliza-se da hidrólise ácida como etapa da metodologia (Hertog *et al.*, 1992, Hertog *et al.*, 1993). O objetivo da hidrólise é a elucidação estrutural dos glicosídeos pela clivagem do açúcar da aglicona, através de hidrólise ácida, enzimática ou alcalina (Markham, 1982). A hidrólise ácida, geralmente com altas concentrações de ácido (1-2M), realizada nas antocianidinas para obtenção das antocianinas é necessária, haja vista a dificuldade encontrada na obtenção de padrões. Entretanto, as antocianinas e as catequinas não podem ser detectadas desta forma em virtude da destruição ou rearranjo dos componentes (Merken e Beecher, 2000).

No método de Price *et al.* (1999) usado em nosso trabalho, a hidrólise não

é realizada pois as formas glicosiladas são interessantes à pesquisa porque os flavonóides são consumidos na forma intacta. A extração dos flavonóides se dá com o uso do solvente metanol aquoso a 70%. Para a análise das antocianinas o metanol aquoso é acidificado com ácido acético na proporção de 70:30:5. Após a extração com solvente metanólico, a solução aquosa, resultante da rotoevaporação, é extraída em SPE em coluna de poliamida, ideal para os glicosídeos (Markham, 1982), pré-condicionada com metanol e água a fim de prevenir contaminantes solúveis em poliamida. A fração metanólica da solução é novamente evaporada, redissolvida em metanol e filtrada em filtros de 0,22 a 0,45 μm para análise posterior em CLAE.

Sakakibara *et al.* (2003) recentemente desenvolveram um método capaz de determinar simultaneamente os ácidos fenólicos e os flavonóides, tanto glicosilados como na sua respectiva forma de agliconas. Esta metodologia é semelhante à usada em nosso estudo uma vez que as amostras de vegetais são extraídas em metanol, e não sofrem hidrólise antes de serem submetidas às análises por CLAE.

Outra ferramenta importante para a identificação e determinação estrutural dos glicosídeos de flavonóides é a espectrometria de massa, utilizada com o surgimento de novas técnicas de ionização. Entre as vantagens desta técnica estão a alta sensibilidade e a possibilidade de hifenação com métodos cromatográficos líquidos para análise das misturas de componentes. Uma das aplicações dos sistemas LC/MS está na obtenção de um screening dos glicosídeos de flavonóides em tecidos vegetais ou fluidos biológicos de diferentes origens (Stobiecki, 2000).

Métodos de extração dos flavonóides

Os flavonóides são moderadamente solúveis em compostos polares entre os quais etanol, metanol, butanol, acetona, etc. A presença do açúcar torna-os mais hidrossolúveis; a combinação de água com esses solventes permite que os solventes sejam mais apropriados para a extração dos glicosídeos

(Markham, 1982). Uma recente pesquisa a respeito da análise de protocolos de extração de antocianinas a partir de resíduos da fermentação vinícola verificou que os solventes Etanol:HCl:Água (50:1:49) e Metanol:HCl 1% apresentaram perfis cinéticos de extração semelhantes. A opção pelo protocolo Etanol:HCl:Água (50:1:49) com 3 h de incubação foi a recomendada, em função dos maiores valores obtidos e devido à baixa toxicidade à saúde humana em relação à utilização de MeOH (Maraschin *et al.*, 2002).

A seleção, preparação e extração do material vegetal deve ser feita com vegetais frescos e as amostras devem ser rapidamente estocadas. A extração ocorre em duas etapas, numa mistura de solventes, como metanol e água nas proporções 9:1 na primeira etapa e 1:1 na etapa seguinte. Em seguida, a solução deve ser evaporada até cerca de 1/3 do volume original até que todo o metanol seja removido. A camada de extrato aquoso deve ser evaporada até a secura em rotaevaporador a vácuo. Para as antocianinas, folhas frescas ou pétalas não devem ser secas mas trituradas com metanol acidificado em ácido clorídrico a 1% (Markham, 1982).

Algumas amostras como vinhos não requerem preparação. Por outro lado, os chás requerem pouca preparação, como a fervura. Em alguns casos, a extração em fase sólida (SPE) ou em fase líquida (LLE) é necessária para o preparo da amostra. A extração de alimentos cítricos é um pouco mais complexa pois envolve corte manual, diluição, centrifugação e filtração. No caso dos alimentos sólidos a extração torna-se mais complexa ainda devido ao fato do uso do gral e pistilo, para amostras como feijões, além da extração em fase sólida para amostras como cebolas e batatas (Merken e Beecher, 2000).

3. OBJETIVOS

GERAL

- Quantificar os flavonóides presentes nos frutos e verduras mais consumidos no Brasil

ESPECÍFICO

- Inferir sobre a ingestão dos flavonóides presentes na dieta, de acordo com o respectivo consumo

4. MATERIAIS E MÉTODOS

4.1 Levantamento de dados

Base de dados sobre os alimentos vegetais mais consumidos

Foram utilizadas as informações obtidas pela Pesquisa de Orçamentos Familiares –POF, implementada pelo IBGE, durante os anos de 1987 e 1996. A pesquisa envolveu amostra de 16.014 domicílios situados nas 11 regiões metropolitanas de Belém, Fortaleza, Recife, Salvador, Belo Horizonte, Rio de Janeiro, São Paulo, Curitiba, Porto Alegre, além de Brasília–DF e o município de Goiânia. As informações obtidas através dos dados coletados pelo Estudo Multicêntrico sobre Consumo Alimentar (1996), realizado pelo Instituto Nacional de Alimentação e Nutrição (INAN), pertencente ao Ministério da Saúde, também contribuíram neste estudo. As informações acima foram complementadas pelos dados estatísticos do relatório anual da Companhia de Entrepósitos e Armazéns Gerais do Estado de São Paulo–CEAGESP (1999), referentes ao volume total de comercialização de hortigranjeiros, que representa cerca de 30% do mercado brasileiro.

Os vegetais frescos foram selecionados de acordo com a frequência de consumo e com o maior conteúdo em flavonóides, estes últimos obtidos através de levantamento bibliográfico.

4.2 Materiais

Os vegetais frescos, classificados botanicamente (Joly, 1985; Souza, 1996), foram obtidos no comércio local em São Paulo durante dois períodos de consumo (inverno/primavera e verão/outono). As amostras foram lavadas, cortadas em pedaços pequenos, congeladas em nitrogênio líquido e armazenadas no ultrafreezer a - 80 °C até a respectiva análise.

Todos os reagentes utilizados foram de grau analítico, ou grau HPLC quando necessário. Os padrões de flavonóides como as flavonas luteolina e

apigenina, os flavonóis caempferol, miricetina e quercetina, a catequina e a epicatequina foram obtidos da Sigma Chemical Co. (St. Louis, E.U.A.) as antocianidinas cianidina, pelargonidina, delphinidina, malvidina e peonidina da Extrasynthese (Genay, França) as flavanonas naringenina e hesperitina e as chalconas naringenina e phloridzina através da Plantech (Reading, Reino Unido), a naringina e a cianidina-3-glicosídeo da Apin Chemicals (Abingdon, Reino Unido) e a rutina da Merck (Darmstadt, Alemanha).

Para a extração em fase sólida utilizaram-se colunas de 1 g de poliamida (CC 6, Macherey-Nagel GmbH & Co., Alemanha), preparadas em nosso laboratório em seringas próprias de 6 mL adquiridas da HPLC Technology. Co. Ltd. (Hertfordshire, Reino Unido).

4.3) Métodos

4.3.1 Determinação de umidade e compostos voláteis

A determinação de umidade e voláteis a 105 °C e a 70 °C a vácuo foi realizada de acordo com os métodos oficiais descritos pela AOAC (1980).

4.3.2 Extração quantitativa dos flavonóides

A extração foi realizada de acordo com o método de Price *et al.* (1999), com algumas modificações. As amostras foram pulverizadas com nitrogênio líquido para posterior extração.

As duplicatas da amostra pulverizada (20 g) foram homogeneizadas três vezes em metanol/água na proporção de 70:30, incluindo a água das amostras (100 mL na primeira extração, 50 mL nas seguintes) ou em metanol/água/ácido acético na proporção de 70:30:5 (para amostras contendo antocianinas) em velocidade 5, no aparelho Ultra-Turrax (Polytron-Kinematica GmbH, Kriens-Luzern, Suíça), durante um minuto, em banho de gelo. O homogeneizado foi filtrado com papel de filtro Whatman n° 06.

Os extratos foram concentrados em rotavapor (RE 120, Büchi, Flawil,

Suíça), em temperaturas de banho de 40 °C até volume próximo a 20 mL. As amostras concentradas tiveram seu volume ajustado com água deionizada em balão de 25 mL para posterior aplicação em colunas de poliamida (SPE).

4.3.3 Extração em fase sólida

Uma alíquota de 10 mL da amostra concentrada foi eluída em coluna de 1 g de Poliamida (CC 6, Macherey-Nagel), preparada em seringa própria de 6 mL (HPLC Technology). As colunas foram pré-condicionadas pela passagem de 20 mL de metanol e 60 mL de água deionizada. Após a passagem dos extratos aquosos, as colunas foram lavadas com 20 mL de água deionizada e a eluição dos flavonóides foi feita com 50 mL de metanol, seguida de 50 mL de metanol-amônia (99,5:0,5). Utilizou-se manifold Visiprep 24 DL da Supelco (Bellefonte, E.U.A.).

Após secagem completa dos eluatos através de rotaevaporação sob vácuo a 40 °C, as amostras foram ressuspendidas em 1 mL de metanol HPLC ou 1 mL de metanol/ácido acético (95:5), no caso das antocianinas, e filtradas utilizando-se filtros de polietileno com membrana PTFE (Millipore Ltd., Bedford, E.U.A.) de 0,22 µ de poro.

4.3.4 Cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE)

A identificação e quantificação dos flavonóides foi realizada através de cromatografia líquida de alta eficiência. O cromatógrafo utilizado foi o do sistema Hewlett-Packard 1100, constituído por injetor automático de amostras, bomba quaternária e detetor de diodos (DAD), controlados pelo software ChemStation.

A coluna utilizada foi a Prodigy 5 µ ODS₃ 250 x 4,60 mm (Phenomenex Ltd., Reino Unido) e a eluição foi realizada com gradiente de solventes constituído por **A**: água/ tetrahidrofurano/ácido trifluoroacético (98:2:0,1) e **B**: acetonitrila, na proporção de 17% de B por dois minutos, aumentando para 25% de B após cinco minutos, 35% de B após mais oito minutos e 50% de B após

mais cinco minutos, de acordo com o método de Price *et al.* (1999).

As amostras foram injetadas em duplicata (20 μ L) e os flavonóides foram obtidos na forma glicosilada, sendo identificados e quantificados de acordo com os padrões externos, na forma de agliconas. Considerou-se uma avaliação positiva na identificação quando a porcentagem de identidade dos espectros foi da ordem de 99,9%. Os glicosídeos ligados aos flavonóides não foram identificados.

A calibração foi realizada através da injeção dos padrões em triplicata em cinco concentrações diferentes.

4.4 Expressão dos Resultados

Os resultados foram expressos em mg de aglicona por 100 g de amostra, em base úmida (b.u.), através da análise das médias e desvios-padrões dos valores obtidos para as duplicatas de extração e duplicatas de injeção de cada uma das amostras.

5. RESULTADOS E DISCUSSÃO

5.1 Quantificação dos flavonóides nos alimentos vegetais mais consumidos

A partir dos dados obtidos pela Pesquisa de Orçamentos Familiares – POF, implementada pelo IBGE (1987/1996) e pelas informações obtidas pelo Estudo Multicêntrico sobre Consumo Alimentar (1996), realizado pelo Instituto Nacional de Alimentação e Nutrição (INAN), pudemos estimar os alimentos vegetais freqüentemente consumidos no Brasil. Nossa pesquisa demonstrou a presença significativa dos diferentes grupos de flavonóides nesses produtos.

As Tabelas 1 e 2 exibem os teores de flavonóides totais encontrados em amostras de alface, pimentão, cebola, almeirão e rúcula (mg/100g b.u.). Os vegetais frescos, classificados botanicamente (Joly, 1985; Souza, 1996), foram obtidos no comércio local em São Paulo durante dois períodos de consumo (inverno/primavera e verão/outono). Pode-se observar que o flavonóide encontrado em maior abundância foi o flavonol quercetina.

Tabela 1. Teor de flavonóides em alimentos vegetais – jun/out 2001
(mg/100g – b.u.)

Amostras	% H ₂ O	Quercetina	Caempferol	Luteolina	Apigenina	Cianidina	Flav.Totais
<i>Lactuca sativa</i>							
Alface lisa	94,7 ± 0,4	3,2 ± 0,3	-	1,0 ± 0,0	-	-	4,2
Alface crespa	94,7 ± 0,4	18,4 ± 0,3	-	0,2 ± 0,0	-	-	18,6
Alface roxa	94,2 ± 0,2	44,9 ± 2,5	-	3,1 ± 0,1	-	19,0 ± 0,7	67,0
<i>Capsicum annum</i>							
Pimentão verm.	92,2 ± 0,2	1,2 ± 0,2	-	0,6 ± 0,0	-	-	1,8
Pimentão amar.	92,8 ± 0,0	0,8 ± 0,0	-	0,9 ± 0,0	-	-	1,7
Pimentão verde	93,6 ± 0,3	4,1 ± 0,5	-	2,1 ± 0,2	-	-	6,2
<i>Allium cepa</i>							
Cebola branca	91,5 ± 0,2	55,6 ± 2,0	-	-	-	-	55,6
Cebola roxa	88,5 ± 0,6	38,3 ± 1,1	-	-	-	1,6 ± 0,1	40,1
<i>Chicorium intybus</i>							
Almeirão	91,8 ± 0,1	25,2 ± 3,4	11,1 ± 2,2	-	1,8 ± 0,1	-	38,1
<i>Eruca sativa</i>							
Rúcula	92,0 ± 0,2	13,9 ± 1,1	104,2 ± 3,4	-	-	-	118,2
Média das análises em duplicata; não detectado (-)							

Tabela 2. Teor de flavonóides em alimentos vegetais - jan-mai 2002
(mg/100g – b.u.)

Amostras	% H ₂ O	Quercetina	Caempferol	Luteolina	Apigenina	Cianidina	Flav.Totais
<i>Lactuca sativa</i>							
Alface lisa	96,0 ± 0,2	2,2 ± 0,0	-	0,1 ± 0,0	-	-	2,3
Alface crespa	94,5 ± 0,3	20,6 ± 1,1	-	0,2 ± 0,0	-	-	20,8
Alface roxa	95,3 ± 0,0	37,5 ± 1,9	-	8,8 ± 0,9	-	20,8 ± 1,5	67,2
<i>Capsicum annum</i>							
Pimentão verm.	93,1 ± 0,2	0,3 ± 0,0	-	0,5 ± 0,0	-	-	0,8
Pimentão amar.	91,3 ± 0,2	2,0 ± 0,0	-	1,1 ± 0,0	-	-	3,1
Pimentão verde	93,4 ± 0,0	1,8 ± 0,0	-	1,2 ± 0,2	-	-	3,0
<i>Allium cepa</i>							
Cebola branca	89,8 ± 0,0	48,2 ± 1,1	-	-	-	-	48,2
Cebola roxa	87,8 ± 0,2	93,6 ± 3,5	-	-	-	6,1 ± 0,3	99,7
<i>Chicorium intybus</i>							
Almeirão	93,2 ± 0,2	3,7 ± 0,5	3,6 ± 0,4	7,8 ± 0,1	2,8 ± 0,3	-	17,8
<i>Eruca sativa</i>							
Rúcula	94,2 ± 0,1	-	40,7 ± 0,3	-	-	-	40,7

Média das análises em duplicata; não detectado (-)

Amostras de alface

A alface é originária da Ásia e chegou ao Brasil no século XVI, através dos portugueses. Caracteriza-se como hortaliça tipicamente folhosa, de elevado consumo e grande aceitação. Existe numa variedade de cultivares, de diversos grupos diferenciados, podendo ser plantados em campo, em estufas e em hidroponia, durante o ano todo. Dentre os cultivares do grupo manteiga (lisa) estão incluídas a Áurea, Babá (verão), Carolina, Elisa, Minie (inverno), Monalisa

e Regina. No grupo da alface crespa encontram-se a Brisa (verão), Elba (inverno), Hortênsia, Maresia; dentre as crespas repolhudas temos Lorca, Salinas e Inajá, como exemplos. Existem também as alfaces do grupo romana (Corsica, Lente), as do grupo mimosa (Green Bowl, Salad Bowl), além das alfaces do grupo de folha roxa como Grenoble, Quatro Estações, Red Head e Firenze (Ruralnet-alface, 2003).

De acordo com as Tabelas 1 e 2, as variedades de alface apresentaram grandes diferenças no conteúdo total de flavonóides, que foi de cerca de 2 a 4 para as variedades lisa, 18 a 21 para a crespa e de 67 mg/100g b.u., para a roxa. O alto conteúdo de flavonóides na alface roxa não é devido apenas à presença de antocianinas, mas também ao alto teor de glicosídeos de quercetina. A antocianidina cianidina contribuiu com cerca de 28 a 31% do conteúdo total dos flavonóides, enquanto a quercetina com 56 a 67%. No estudo de Dupont *et al.* (2000) os glicosídeos de cianidina contribuíram em cerca de 13 a 17% para duas variedades de alface roxa analisadas.

O alto conteúdo de glicosídeos de quercetina na alface roxa em relação à verde também foi relatado por outros autores. No trabalho de Dupont *et al.* (2000) os teores de quercetina encontrados estiveram entre 0,03 a 23,0 mg/100g b.u. para as variedades de alface verde e cerca de 5,6 a 15,4 mg/100g b.u. para as variedades de alface vermelha. Crozier *et al.* (1997) relataram uma faixa maior de concentração de quercetina na alface roxa "Lollo Rosso" (45-91 mg/100g b.u.), quando comparada com a variedade verde "Lollo Bionda" (9,4 mg/100g b.u.) e esse fato poderia ser atribuído à proximidade do flavonol e da antocianina na via biossintética.

Um pequeno teor da flavona luteolina glicosilada foi detectado nas amostras de alface. A média da concentração de luteolina, de acordo com as Tabelas 1 e 2, foi de 2 mg/100 g b.u. Esses resultados são similares aos encontrados por Dupont *et al.* (2000), de cerca de 0,01 a 2,3 mg/100g b.u. Hertog *et al.* (1992), porém, não detectaram luteolina em nenhuma alface.

De acordo com USDA-Flavonoids Database (2003) na alface crespa foram

compilados cerca de 2,5 mg/100g b.u. de glicosídeos de quercetina, 0,4 mg/100g b.u. de apigenina e 0,06 mg/100g b.u. de luteolina.

Amostras de pimentão

Como a alface, o pimentão também apresentou glicosídeos de quercetina e de luteolina. De acordo com Howard *et al.* (2000) apenas as espécies de *Capsicum* apresentam os dois tipos de flavonóides em concentrações similares.

Como observado através das Tabelas 1 e 2, nos pimentões analisados foram detectados teores de glicosídeos de quercetina e de luteolina entre 0,3 a 4,1 mg/100 g b.u. e 0,5 a 2,1 mg/100 g b.u., respectivamente.

Nossos resultados foram maiores do que os relatados por Justesen *et al.* (1998) que encontraram valores de luteolina de 0,1, 0,2 e 0,5 mg/100g b.u. nos pimentões vermelho, amarelo e verde, respectivamente. Dados sobre os níveis de derivados de quercetina não foram reportados. Lugasi e Hóvári (2000) detectaram 0,9 mg/100 g b.u. de glicosídeos de quercetina e 1,1 mg/100 g b.u. de glicosídeos de luteolina em diferentes tipos de pimentão. Hertog *et al.* (1992) detectaram luteolina (1,1 mg/100g b.u.) apenas no pimentão vermelho.

De acordo com USDA-Flavonoids Database (2003) foram compilados cerca de 0,7 mg/100g b.u. de luteolina e 0,6 mg/100g b.u. de quercetina no pimentão verde. Para a variedade vermelha apenas 0,6 mg/100 g b.u. de luteolina foram detectadas.

Amostras de almeirão e rúcula

As amostras de vegetais folhosos amargos como o almeirão e a rúcula se caracterizaram pela presença do flavonol caempferol em altas concentrações. A rúcula apresentou a maior concentração de glicosídeos de caempferol (cerca de 41 a 104 mg/100g b.u.) e os derivados de quercetina variaram entre 0 a 14 mg/100g b.u. (Tabelas 1 e 2).

Na amostra de almeirão obtivemos teores de glicosídeos de quercetina entre 4 a 25 mg/100g b.u. e de glicosídeos de caempferol em cerca de 4 a 11

mg/100g b.u. No entanto, Dupont *et al.* (2000) evidenciaram que as espécies *Lactuca* e *Chicorium*, pertencentes à mesma família (Compositae), possuem perfis distintos. Hertog *et al.* (1992) também detectaram no almeirão derivados de quercetina e de caempferol com valores abaixo de 1 mg e 2 mg /100g b.u., respectivamente.

Amostras de cebola

A cebola classifica-se como planta herbácea, de ciclo anual para a produção de bulbos comerciáveis e bienal para a produção de sementes. Hortaliça pertencente à família Liliaceae, sua parte comerciável é um bulbo tunicado. O fotoperíodo e a temperatura, sobretudo o primeiro, são dois fatores limitantes na bulbificação da cebola. Seu bulbo, utilizado como condimento para consumo *in natura* pode ainda ser industrializado. Entre as cebolas brancas são encontrados os cultivares: Aurora, Baia, Bola Precoce, Granex e Primavera. Dentre as cebolas roxas a Red Creole e a Roxa do Barreiro se destacam (Ruralnet-cebola, 2003).

A cebola branca apresentou teores de glicosídeos de quercetina entre 48 e 56 mg/100g b.u. (Tabelas 1 e 2). Estes valores são similares aos encontrados por Crozier *et al.* (1997), de 19 a 63 mg/100 g b.u, e também aos valores obtidos por Hertog *et al.* (1992), de 28 a 49 mg/100 g b.u. De acordo com o USDA-Flavonoids Database (2003) a cebola crua possui teores de quercetina mais baixos, cerca de 13,3 mg/100 g b.u.

Nas cebolas roxas foram detectados níveis de glicosídeos de quercetina de 38 a 94 mg/100g b.u., de acordo com a estação (Tabelas 1 e 2). Crozier *et al.* (1997) detectaram níveis de quercetina bem menores na cebola roxa, de 20 mg/100g b.u. Justesen *et al.* (1998) obtiveram na cebola roxa um valor médio de quercetina (45 mg/100 g b.u.) semelhante ao nosso estudo.

Rhodes e Price (1996) encontraram níveis maiores de quercetina na variedade de cebola vermelha (92 mg/100 g b.u.) quando comparada com as variedades de cebolas rosa e marrom (71 e 80 mg/100 g b.u., respectivamente).

Para a variedade de cebola vermelha, a antocianina compreendeu 9,2% do total de flavonóides, duas vezes maior em relação ao nosso estudo, de cerca de 5%. De acordo com Clifford (2000), na cebola vermelha, em geral, o conteúdo de antocianinas é superior a 25 mg/100 g b.u. Pela compilação apresentada pelo USDA-Flavonoids Database (2003) a cebola vermelha possui teores de quercetina e de cianidina de cerca de 19,9 e 13,1 mg/100 g b.u.

Amostras de vegetais da Família Cruciferae

A Tabela 3 exibe os teores de flavonóides totais, expressos em mg/100 g b.u., em amostras pertencentes à mesma espécie, como a couve, o repolho verde, o repolho roxo e o agrião.

Tabela 3. Flavonóides presentes nas Crucíferas (mg/100g – b.u.)

Amostras	% H ₂ O	Quercetina	Caempferol	Luteolina	Cianidina	Flav.Totais
Agrião	92,6 ± 0,3	1,0 ± 0,0	0,3 ± 0,0	-	-	1,3
Couve	90,9 ± 0,6	1,3 ± 0,1	21,0 ± 1,4	-	-	22,3
Repolho verde	92,9 ± 0,0	-	-	-	-	-
Repolho roxo	89,3 ± 0,1	-	-	-	33,9 ± 2,1	33,9

Média das análises em duplicata; não detectado (-)

Amostra de agrião

Na amostra de agrião foram detectados baixos teores de glicosídeos dos flavonóis quercetina e caempferol, de 1,0 mg/100g b.u. e 0,3 mg/100g b.u. (Tabela 3), quando comparado às outras amostras da mesma espécie. A fim de determinar a ingestão de flavonóides em diversos alimentos vegetais consumidos na Holanda, Justesen e Knuthsen (2001) encontraram na amostra de agrião valores de cerca de 4 mg/100g b.u. para a quercetina e de 1 mg/100g b.u. para o caempferol.

Amostra de couve

De acordo com a Tabela 3 foram detectados glicosídeos dos flavonóis quercetina e caempferol na couve, com valores de 1,3 mg/100 g b.u. e 21 mg/100 g b.u., respectivamente. Hertog *et al.* (1992) detectaram na couve 11 mg/100 g b.u. de quercetina e 21 mg/100 g b.u. de caempferol. Justesen *et al.* (1998) detectaram também 11 mg/100 g b.u. quercetina na couve e quase o dobro do teor de caempferol (cerca de 47 mg/100 g b.u.). Lugasi e Hovari (2000) obtiveram apenas 0,5 mg/100 g b.u. de caempferol, seguindo o método de Hertog *et al.* (1992).

De acordo com o USDA-Flavonoids Database (2003) foram compilados na couve teores de glicosídeos de quercetina de 7,7 mg/100 g b.u. e de glicosídeos de caempferol de 26,7 mg/100 g b.u.

Amostra de repolho

O repolho é uma hortaliça que pode ser plantada o ano todo, de acordo com as exigências de cada cultivar. É formada por inúmeras folhas que se imbricam, dando origem a uma “cabeça”, que constitui a parte comestível da planta. Comercialmente, os repolhos são classificados, segundo a forma e a cor da cabeça, em redondo, chato, pontudo ou coração e boi, crespo ou de milhão e roxo. Dentre os cultivares claros destacam-se Akemi, Aplause (verde), Branco, dentre os cultivares roxos se destacam Roxo, Meteor, Red Mateos (Ruralnet-repolho, 2003).

Na amostra de repolho verde não foi detectado nenhum flavonóide (Tabela 3). Hertog *et al.* (1992) obtiveram valores abaixo de 0,1 mg/100 g b.u. e abaixo de 0,2 mg/100 g b.u. de quercetina e de caempferol, respectivamente, nas amostras de repolho branco, repolho verde e couve-flor, ambas pertencentes à mesma família. Porém, Lugasi e Hovari (2000) detectaram no repolho branco cerca de 0,2 de quercetina, 1,2 de caempferol e 0,4 mg/100 g b.u. de luteolina. Os dados do USDA-Flavonoids Database (2003) também

forneceram para o repolho verde valores abaixo de 0,1 mg/100 g b.u. dos derivados de flavonas e flavonóis.

No repolho roxo foi detectada apenas a antocianina cianidina, com cerca de 34 mg/100 g b.u. (Tabela 3). Hertog *et al.* (1992) detectaram cerca de 0,5 mg/100 g b.u. de quercetina no repolho vermelho. Lugasi e Hovari (2000) encontraram no repolho vermelho 0,9 e 0,6 mg/100 g b.u., de quercetina e luteolina, respectivamente. De acordo com o USDA-Flavonoids Database (2003) foram detectados teores de 0,4 e 0,06 mg/100 g b.u. de quercetina e de luteolina no repolho vermelho.

Falcão *et al.* (2001) encontraram cerca de 14 mg/100 g b.u. de antocianinas totais na amostra de repolho roxo. Ao analisarem a influência da adição de fertilizantes contendo sódio e potássio na cultura do repolho vermelho, Picaglia *et al.* (2002), encontraram um valor médio de antocianinas correspondente a 125 mg/100 g b.u., nas safras de 1996 e 1997, concluindo que a adição dos minerais ao solo demonstrou baixa influência sobre a pigmentação das antocianinas.

A composição das antocianinas do repolho roxo é muito complexa devido à glicosilação com tipos de carboidratos diferentes (soforosídeos) e devido aos ácidos cinâmicos que promovem a acilação das antocianinas (Degenhardt *et al.*, 2000; Dyrby *et al.*, 2001). Dyrby *et al.* (2001) confirmaram a presença da antocianidina cianidina como única aglicona e duas cianidinas glicosiladas no extrato hidrolisado de repolho roxo. Estas antocianinas presentes no repolho roxo podem ser consideradas uma interessante fonte de corante alimentício devido à baixa sensibilidade à fotodegradação em faixas de pH entre 3 e 7, além da estabilidade ao tratamento térmico e pouca perda da coloração (Malien-Aubert *et al.*, 2001).

Amostras de tomate

Originário da América Central, o tomate pertence à família Solanaceae, sendo hoje a mais importante hortaliça do mundo, tanto por área cultivada,

como por valor econômico. O Brasil figura como um dos maiores produtores de tomate e o Estado de São Paulo contribui com 60% da produção brasileira. Dentre os exemplos de cultivares temos: Angela Gigante, Santa Clara, Fuji, e do tipo salada, Oishi, Ogata e Carmel (Ruralnet-tomate, 2003).

As maiores classes de flavonóides presentes nas amostras de tomate são os flavonóis e a chalcona naringenina. As chalconas são restritas a alguns vegetais, como é o caso do tomate e da maçã.

Nossos resultados (Tabela 4) foram similares aos encontrados em três variedades de tomates analisados por Crozier *et al.* (1997), nos quais os teores de quercetina estiveram entre 0,2 e 1,2 mg/100 g b.u., para os cultivares comuns. Para as variedades de tomate cereja, os autores encontraram níveis de quercetina que oscilaram entre 0,2 e 20,3 mg/100 g b.u., no período compreendido entre agosto de 1994 e agosto de 1995.

**Tabela 4. Flavonóides presentes no tomate com epicarpo- jun-ago 2001
(mg/100g – b.u.)**

Amostras	% H ₂ O	Quercetina	Caempferol	Chalcona		Flav.Totais
				Naringenina	Naringenina	
<i>Lycopersicum</i>						
<i>esculentum</i>						
Tomate salada	94,1 ± 0,0	0,5 ± 0,0	-	1,7 ± 0,1	-	2,2
Tomate caqui	94,4 ± 0,0	1,3 ± 0,1	-	1,3 ± 0,0	-	2,6
Tomate cereja	91,6 ± 0,4	4,2 ± 0,6	-	4,0 ± 0,2	-	8,2

Média das análises em duplicata; não detectado (-)

Justesen *et al.* (1998) detectaram 1,4 mg/100g b.u. de quercetina e cerca de 1,5 mg/100g b.u da flavanona naringenina nas variedades de tomates analisados com epicarpo. Através dos dados compilados pelo USDA-Flavonoids Database (2003) na variedade de tomate comum, cerca de 0,6 e de 0,07 mg/100 g b.u. de quercetina e caempferol foram encontrados. Para a variedade de tomate cereja os valores estiveram entre 2,8 e 0,1 mg/100 g b.u. de

quercetina e caempferol, respectivamente.

Pelos dados observados na Tabela 4, nas variedades de tomate salada e caqui a quantidade de chalconaringenina encontrada foi similar; o tomate tipo cereja se destacou com um teor de chalcona cerca de 1,5 vezes maior em relação aos outros cultivares de tomates.

A hidrólise ácida, normalmente utilizada nas análises laboratoriais de rotina, converte a chalcona, presente no epicarpo do tomate, na sua respectiva flavanona (naringenina), normalmente presente em quantidades traços. O teor de chalcona naringenina encontrado no epicarpo de tomates no estágio pós climatérico foi de 6,4 mg/100 g b.u., cerca de 80 vezes o teor da polpa (Tomás-Barberán e Clifford, 2000).

A composição dos flavonóides no tomate pode ser controlada pela exposição à luz em determinado espectro (Robards *et al.*, 1999). A luz vermelha, por exemplo, favorece a formação de compostos protetores no epicarpo como os flavonóis e a chalcona naringenina.

De acordo com Stewart *et al.*, (2000) a alta exposição à luz solar pode resultar no acúmulo de flavonóis na pele do tomate. O conteúdo de flavonóis presentes no tomate sofre variação de acordo com a variedade do fruto, com o tamanho, e com as condições climáticas e agronômicas, como o cultivo de tomate cereja em estufas.

No estudo realizado por Muir *et al.*, (2001) a superexpressão da atividade da chalcona isomerase na biossíntese do flavonol resultou num significativo aumento nos níveis de flavonóis em tomates (cerca de 78 vezes em relação ao tomate comum). De acordo com os autores, as novas variedades com capacidade antioxidante incrementada podem oferecer oportunidades para os produtos à base de tomate no sentido de aumentar o potencial benéfico destes novos produtos. Le Gall *et al.* (2003) detectaram em tomates modificados geneticamente um conteúdo total de glicosídeos de flavonóis de cerca de 10 vezes em relação ao tomate comum, sendo que 60% do valor encontrado foi devido à presença dos glicosídeos de caempferol. De acordo com os autores,

os glicosídeos de caempferol, em geral, compreendem cerca de 5% do total de flavonóides presentes nos tomates.

Amostras de laranja

A laranja teve origem provável na Ásia – Índia e China – países vizinhos de clima subtropical úmido. Foi para a Europa e daí para o Brasil, trazida pelos portugueses no século XVI. Cientificamente, a laranja doce é conhecida como *Citrus sinensis* e a laranja azeda como *Citrus aurantium*, ambas Dicotiledôneas, da família Rutaceae. Na laranja doce destacam-se as variedades Pera (maturação semi-tardia), Natal (tardia), Valencia, Bahia (semi-precoce), Baianinha e Lima. A espécie laranja azeda é representada pelas laranjas-da-terra. O cultivo da laranjeira está disseminado por mais de 60 países, sendo que na produção mundial de cítricos a laranja participa com cerca de 70% (Ruralnet-laranja, 2003).

Os flavonóides que predominam nos cítricos são as flavanonas, normalmente sob a forma glicosilada. Os cítricos também possuem flavonas polimetoxiladas, descritas na forma de flavonóides menores, como a sinensetina e a nobiletina, presentes na casca da laranja doce. Os derivados de quercetina são encontrados em menores quantidades em todo o fruto (Robards *et al.*, 1999).

As flavanonas foram encontradas em altas concentrações tanto na polpa como na casca das variedades de laranja analisadas (Tabela 5).

Tabela 5. Teor de flavonóides presentes na laranja - jan-mar 2002
(mg/100g – b.u.)

Amostras	% H ₂ O	Quercetina	Sinensetina	Naringenina	Hesperitina	Flav.Totais
<i>Citrus sinensis</i>						
Lar. Pera –polpa	83,3 ± 1,2	0,9 ± 0,0	-	17,0 ± 0,8	16,9 ± 1,9	34,8
Lar. Lima –polpa	85,2 ± 1,3	0,8 ± 0,0	-	28,6 ± 0,2	14,9 ± 0,9	44,3
Lar. Pera –casca	71,9 ± 0,4	4,1 ± 0,0	19,6 ± 0,4	37,4 ± 1,5	109,4 ± 5,1	170,5
Lar. Lima –casca	73,9 ± 0,1	3,6 ± 0,1	17,0 ± 1,2	25,1 ± 1,1	79,7 ± 0,3	125,4

Média das análises em duplicata; não detectado (-)

As flavanonas presentes na casca da laranja representam uma concentração em torno de três vezes maior (105 a 147 mg/100 g b.u.) em relação à concentração na polpa da fruta (34 a 44 mg/100 g b.u.). Larrauri *et al.* (1996) também encontraram na casca da laranja as flavanonas naringenina e hesperitina, esta última em maior concentração. Justesen *et al.* (1998) encontraram na polpa da laranja teores de naringenina e hesperitina entre 11 e 31 mg/100 g b.u., respectivamente.

O flavonol quercetina foi detectado em menor quantidade na laranja, em cerca de 1 mg/100 g b.u na polpa e 4,0 mg/100 g b.u. na casca.

Nos cítricos a presença de flavonas não glicosiladas e altamente metoxiladas contribuem para a sensação de amargor. De acordo com os dados presentes na Tabela 5, a flavona sinensetina foi detectada na casca da laranja numa média de 18 mg/100 g b.u. Drewnoski e Gomez-Carneros (2000) detectaram cerca de 0,1 mg/L de sinensetina no suco de laranja fresco.

Robards *et al.* (1999), questionam a presença da naringina (flavanona glicosilada) nas variedades de laranja doce. A resolução desta questão é importante porque a naringina tem sido usada como marcador quimiotaxonômico para a distinção da laranja doce em relação aos outros cultivares cítricos.

Amostras de maçã

Originária das montanhas do Cáucaso, Oriente Médio e Leste Asiático, a maçã é uma fruta típica de clima temperado, pertencente à família Rosaceae. Em São Paulo, considerado o quinto maior Estado produtor do país, a maçã é quase totalmente comercializada *in natura*. Eventualmente, pode ser industrializada e dependendo da variedade, utilizada para a fabricação de sidra, purê ou suco. Entre os exemplos de cultivares estão Soberana, Gala e Glícia (película amarela e avermelhada), Delícia, e Marquesa (película avermelhada) e Centenária, de película amarela (Ruralnet-maçã, 2003).

As maiores classes de flavonóides presentes na maçã são os flavonóis, os flavanóis (catequinas e epicatequinas) e a dihidrochalcona phloridzina, restrita à maçã. Nos cultivares de maçã de coloração vermelha também estão presentes derivados glicosilados de antocianina.

De acordo com a Tabela 6, os flavanóis foram encontrados em concentrações maiores com relação aos outros flavonóides nas maçãs analisadas com tegumento. Também foram encontrados, em menores quantidades, os flavonóis quercetina e a dihidrochalcona phloridzina (localizada próxima às sementes). Na Tabela 7 observamos os teores de flavonóides obtidos nas polpas e nos tegumentos das maçãs gala e golden.

Tabela 6. Flavonóides presentes na maçã com tegumento- jun-ago 2001

(mg/100g – b.u.)

Amostras	% H ₂ O	Epi-					Flav.Totais
		Quercetina	Catequina	Catequina	Cianidina	Phloridzina	
<i>Malus sylvestris</i>							
Maçã gala	86,8 ± 0,1	10,1 ± 1,2	12,3 ± 0,4	11,6 ± 0,8	-	2,1 ± 0,0	36,2
Maçã fuji	82,3 ± 0,6	0,4 ± 0,0	5,6 ± 0,2	5,9 ± 0,2	-	2,0 ± 0,0	14,0
Maçã golden	84,2 ± 0,2	2,3 ± 0,2	7,2 ± 0,3	8,3 ± 0,3	-	2,3 ± 0,0	20,1

Média das análises em duplicata; não detectado (-)

Em nosso trabalho, o conteúdo de quercetina detectado nas amostras de maçã analisadas com tegumento (Tabela 6) foi similar aos valores encontrados por Price *et al.* (1999), de cerca de 2,6 a 7,4 mg/100 g b.u.

Através dos dados da Tabela 7 observamos também que o tegumento da maçã gala (vermelha) apresentou o dobro da concentração de quercetina em relação ao tegumento da maçã golden (verde). Nos dados fornecidos pelo USDA-Flavonoids Database (2003) o teor de quercetina nas maçãs analisadas com tegumento foi de 4,4 mg/100 g b.u. Para as maçãs analisadas sem tegumento o teor de quercetina caiu para 1,5 mg/100 g b.u.

Tabela 7. Flavonóides presentes na maçã - período maio 2002 (mg/100g – b.u.)

Amostras	% H ₂ O	Quercetina	Catequinas	Cianidina	Phloridzina	Flav.Totais
<i>Malus sylvestris</i>						
Maçã gala polpa	84,9 ± 0,4	0,1 ± 0,9	13,7 ± 0,4	-	2,3 ± 1,0	15,5
Maçã golden polpa	84,3 ± 0,5	0,3 ± 0,0	6,9 ± 0,4	-	1,1 ± 0,0	8,3
Maçã gala teg.	79,7 ± 0,4	70,7 ± 1,6	6,5 ± 0,3	1,1 ± 0,0	15,3 ± 0,5	94,3
Maçã golden teg.	77,7 ± 0,5	36,0 ± 2,2	4,4 ± 0,5	-	21,5 ± 1,7	57,5

Média das análises em duplicata; não detectado (-)

De acordo com Price *et al.* (1999), o processamento doméstico de descascar o fruto resultou em perda dos derivados de quercetina em torno de 63 a 97%. Eles observaram também que os derivados de flavonóis não estão distribuídos nas mesmas proporções entre a polpa e o tegumento do fruto.

Os teores de catequina e epicatequina encontrados nas maçãs analisadas com casca foram similares (Tabela 6). Em nosso trabalho não foi verificada variação com relação aos teores de catequinas analisados nas mesmas variedades de maçã com e sem o tegumento (Tabelas 6 e 7).

Arts *et al.* (2000) verificaram pequenas diferenças nos teores de flavanóis em sete variedades de maçãs analisadas com o tegumento, entre 0,4 a 1,6 mg/100 g b.u. para as catequinas e de 7 a 10 mg/100 g b.u., para as

epicatequinas. Nas mesmas variedades de maçã analisadas sem o tegumento foi observado que os teores de catequina e epicatequina não variaram significativamente. De acordo com USDA-Flavonoids Database (2003) foram obtidos valores de 8,1 e de 0,9 mg/100 g b.u. de epicatequinas e catequinas nas maçãs analisadas com o tegumento. Estes valores são próximos dos teores das maçãs analisadas sem tegumento (6,2 e de 0,9 mg/100 g b.u. de epicatequinas e catequinas).

Arts *et al.* (2000) concluíram que o processamento não é um fator determinante para a ingestão das catequinas, uma vez que a maioria dos alimentos que contêm catequinas são consumidos crus.

A distribuição do teor de phloridzina na maçã aumenta na direção do tegumento para as sementes, onde contribui com 98% dos flavonóides totais (Awad *et al.*, 2000). Ao observarmos os dados obtidos na Tabela 7, o conteúdo total de phloridzina encontrado foi constante nas variedades de amostra analisadas com tegumento (cerca de 2 mg/100 g b.u.). No entanto, observamos uma concentração maior de phloridzina ao analisarmos os tegumentos das duas variedades de maçãs (15,3 mg/100 g b.u e 21,5 mg/100 g b.u. para as maçãs gala e golden). Ao estudar a atividade antioxidante das dihidrochalconas Nakamura *et al.* (2003) concluíram que elas possuem significativa habilidade em seqüestrar radicais e de suprimir a peroxidação lipídica.

A antocianina cianidina foi detectada em baixa concentração (Tabela 7) apenas no tegumento da maçã de coloração vermelha, a variedade gala.

As diferenças observadas entre as concentrações de quercetina, catequina e epicatequina entre as variedades analisadas podem ser explicadas pela exposição solar de algumas partes da fruta, pela distribuição diferenciada dos flavonóides, (casca, polpa e semente), além das variações nas posições das frutas no alto da copa (Price *et al.*, 1999, Awad *et al.*, 2000).

Estudando os efeitos da intensidade da luz nos teores de flavonóides e ácidos clorogênicos presentes no tegumento da maçã "Jonagold", Awad *et al.* (2001a) concluíram que os teores de phloridzina e catequina são independentes

da intensidade da luz e posição na copa da árvore. Foi observado que a acumulação de phloridzina e catequina não é afetada pela síntese de quercetina e cianidina, embora tenham a mesma via biossintética. Em outro estudo, Awad *et al.* (2001b) observaram que os glicosídeos de quercetina, as catequinas e os ácidos clorogênicos são acumulados durante o desenvolvimento até o estágio de maturação. Os glicosídeos de quercetina e de antocianina são fortemente dependentes da posição na árvore e da intensidade da luz, ao contrário dos outros grupos de flavonóides.

5.2 Influência da sazonalidade no teor de flavonóides nos alimentos vegetais

A Tabela 8 mostra os melhores períodos de safra para cada amostra analisada, de acordo com a CEAGESP (1999).

Tabela 8. Os produtos e suas épocas, de acordo com a CEAGESP

Produtos	Jan	Fev	Mar	Abr	Mai	Jun	Jul	Ago	Set	Out	Nov	Dez
Alface												
Almeirão												
Rúcula												
Cebola												
Pimentão												
Tomate												
Maçã												
Laranja												

fraco
 regular
 forte

O melhor período de safra para os vegetais folhosos (alface, rúcula, almeirão) ocorre durante a primavera, nos meses de setembro e outubro, de acordo com a Tabela 8 da CEAGESP (1999).

Conforme observado Figura 17, a variabilidade sazonal foi maior para os vegetais folhosos que apresentaram altos teores de flavonóides no período da primavera. Entretanto, observamos que a variabilidade sazonal foi menor nas amostras de alface.

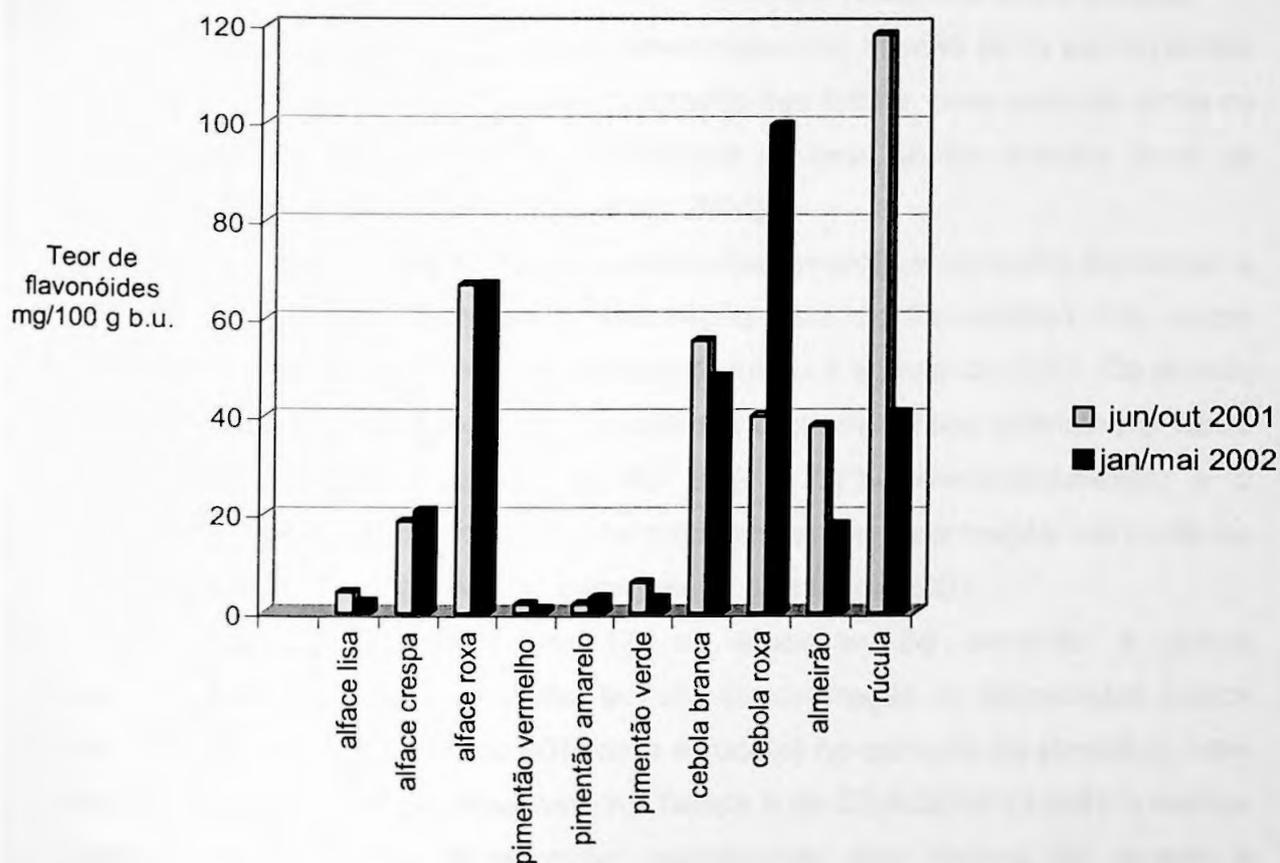


Figura 17. Influência da sazonalidade no teor de flavonóides nos alimentos vegetais

Hertog *et al.* (1992) verificaram que a variação sazonal nos vegetais folhosos como a alface, a endívia e o alho foi cerca de três a cinco vezes mais alta no verão em relação às outras estações. Esse resultado já era esperado visto que a síntese dos flavonóides nos vegetais é dependente de luz, de forma que a concentração seja predominante nas folhas.

Por outro lado, as diferenças de concentração de flavonóides entre as variedades de alface analisadas foram relativamente altas. A concentração total de flavonóides na alface crespa (19–21 mg/100 g b.u.) foi cerca de 4,5 a nove vezes maior em relação à alface lisa (2-4 mg/100 g b.u.), de acordo com os períodos analisados (Figura 17). A alface roxa (67,0 mg/100 g b.u.) apresentou uma concentração total de flavonóides em torno de 17 a 29 vezes maior em relação à alface lisa e de três a 3,6 vezes maior em relação à alface crespa.

A diferença entre os teores de flavonóides nas alfaces pode ser explicada pelas condições agrônômicas, pela coloração das folhas, pela variação entre os cultivares, além da diversidade encontrada no teor de flavonóides entre as folhas internas e externas (Dupont *et al.*, 2000).

O teor total de flavonóides dos pimentões amarelo e vermelho foi similar e o pimentão verde apresentou concentração total de flavonóides três vezes maior em relação aos outros, no período de junho a agosto de 2001. De acordo com a Figura 17, o teor total de flavonóides dos pimentões vermelho e verde diminuiu significativamente (cerca de 56% e 52%, respectivamente) e o pimentão amarelo apresentou um aumento em sua concentração em torno de 1,8%, no período compreendido entre janeiro a maio de 2002.

De acordo com a Figura 17, as amostras de almeirão e rúcula apresentaram redução significativa em sua concentração de flavonóides (cerca de 53% para o almeirão e de 66% para a rúcula) no período de janeiro a maio de 2002. Como pode ser observado na Tabela 8 da CEAGESP (1999), o melhor período para a safra de almeirão corresponde aos meses de agosto a novembro e para a safra de rúcula os meses de julho a novembro, o que poderia explicar as variações encontradas.

Em relação às cebolas observou-se que a cebola roxa não apresentou teores maiores de quercetina em relação à cebola branca durante a primavera. Por outro lado, houve um aumento em cerca de 2,5 vezes na concentração total de flavonóides para as cebolas roxas, no período de janeiro a maio de 2002, que compreende o melhor período para a safra de cebolas, de acordo com a

Tabela 8 da CEAGESP (1999).

Além das diferenças sazonais, essas variações também parecem estar relacionadas à variabilidade entre os cultivares. Häkkinen e Törrönen (2000) analisaram o conteúdo de flavonóides e ácidos fenólicos em seis variedades de morango e observaram diferenças no teor de ácidos fenólicos. Variações também foram observadas nos morangos plantados em duas regiões da Finlândia em relação aos morangos plantados na Polônia. Porém, ao considerarmos a técnica de cultivo, foi observado que o cultivo orgânico não influenciou o teor de compostos fenólicos nos morangos.

Dependendo da intenção do uso do alimento vegetal, diferentes cultivares podem ser mais ou menos adequados. Cordenunsi *et al.* (2002) analisaram também seis cultivares de morango e detectaram teores de antocianinas totais entre 13 e 55 mg/100g b.u. Verificou-se que o cultivar Campineiro foi o que apresentou maior concentração de ácido ascórbico, com baixo teor de antocianina. Os cultivares Mazi e Dover, por outro lado, mostraram altos níveis de antocianinas, com baixos teores de ácido ascórbico. A possibilidade da antocianina e do ácido ascórbico atuarem de forma complementar na proteção da célula contra os danos causados pela oxidação não foi descartada. Talvez isso possa explicar o porquê de algumas frutas possuírem maior quantidade de um composto e menor quantidade de outro.

Diante do acima exposto observa-se que a escolha do cultivar é muito importante no sentido de otimizar a mistura dos compostos antioxidantes ingeridos nos alimentos vegetais. Algumas espécies vegetais possuem teores de compostos fenólicos similares a outras, mas apresentam atividade antioxidante muito reduzida. Desta forma, verifica-se que não é a quantidade do composto antioxidante mas a qualidade deste composto que irá interagir no vegetal, atenuando ou amplificando a sua capacidade antioxidante total (Ninfali e Bacchiocca, 2003).

5.3 Quantificação dos flavonóides nas frutas tropicais

A Tabela 9 exhibe os teores de flavonóides totais encontrados em amostras de polpa congelada de goiaba vermelha, caju, graviola, murici, acerola e açaí. Além das polpas congeladas as seguintes frutas foram analisadas *in natura*: jambo rosa, jabuticaba (polpa e epicarpo) e amora (mg/100 g b.u.). As frutas foram obtidas no comércio local em São Paulo e classificadas botanicamente (Joly, 1985; Souza, 1996).

Tabela 9. Flavonóides presentes nas frutas tropicais (mg/100g – b.u.)

Família Bot.						Flavonóides
Amostras	% H ₂ O	Flavonóis	Flavonas	Antocianinas	Catequinas	Totais
Myrtaceae						
Goiaba verm-polpa cong.	89,0 ± 0,1	0,1 ± 0,0	-	-	-	0,1
Jambo rosa-fruto	91,5 ± 0,1	0,7 ± 0,0	-	0,2 ± 0,0	0,5 ± 0,0	1,4
Jabuticaba-polpa	81,3 ± 0,0	0,9 ± 0,0	-	0,1 ± 0,0	-	1,0
Jabuticaba-epicarpo	80,6 ± 0,9	16,0 ± 1,4	-	229,0 ± 5,6	-	245,0
Anacardiaceae						
Caju-polpa cong.	85,1 ± 0,8	0,5 ± 0,0	-	-	-	0,5
Annonaceae						
Graviola-polpa cong.	85,1 ± 0,7	-	-	-	3,3 ± 0,3	3,3
Malpighiaceae						
Murici-polpa cong.	92,2 ± 0,8	2,1 ± 0,0	-	-	0,9 ± 0,0	3,0
Acerola-polpa cong.	92,5 ± 0,6	8,2 ± 0,2	-	4,5 ± 0,2	-	12,7
Palmae						
Açaí-polpa cong.	87,8 ± 0,8	-	2,8 ± 0,1	36,3 ± 1,9	-	39,1
Moraceae						
Amora-fruto	85,4 ± 0,4	-	-	309,0 ± 20,3	-	309,0

Média das análises em duplicata; não detectado (-)

Amostra de goiaba vermelha (polpa congelada)

A goiaba, pertencente à família Myrtaceae é originária da América Tropical, numa região situada entre o México e o Brasil, sendo disseminada em toda a região tropical. As frutas são variáveis em seu tamanho, forma, sabor, peso e coloração de polpa, que pode ser branca, creme, amarela, rosa ou vermelha. A fruta é rica em vitamina C e se destina tanto ao consumo natural como à industrialização, na forma de compota, massa, suco ou geléia. Cultivares: Rica, Paluma, Indiana vermelha, entre outros (Ruralnet-goiaba, 2003).

De acordo com os dados da Tabela 9, apenas uma pequena concentração de quercetina foi detectada na polpa da goiaba vermelha, congelada industrialmente. No estudo realizado por Gorinstein *et al.* (1999), apenas três das frutas tropicais analisadas (manga, goiaba e lichia) apresentaram alto conteúdo de polifenóis totais, de cerca de 4,9 mg/100g b.u para a goiaba madura. Estas frutas foram consideradas preferenciais para uma possível prevenção da aterosclerose entre os alimentos vegetais da dieta.

Amostra de jambo rosa (fruta fresca)

Fruto de coloração vermelho-escura, rosa ou branca, apresenta polpa branca de sabor doce e de consistência esponjosa. Em geral, é consumido *in natura* ou sob a forma de sucos e de doces em calda (BRASIL, 2002).

Na amostra de jambo rosa foram detectadas baixas quantidades de flavonóides totais; entre os quais derivados de quercetina, de catequinas e de cianidina, como antocianidina (0,7; 0,2 e 0,5 mg/100g b.u., respectivamente) de acordo com os valores observados na Tabela 9.

Amostra de jabuticaba (fruta fresca)

A jabuticaba é uma fruta silvestre de cor roxa escura ou negra. Apresenta polpa branca e succulenta e possui três tipos diferentes: jabuticaba gaúcha

(grande), jabuticaba de cabinho e jabuticaba sabará ou miúda. Pode ser consumida ao natural, sendo utilizada também para fabricação de doces, geléias, licor ou vinho (BRASIL, 2002). De acordo com os dados apresentados na Tabela 9 os teores de flavonóides encontrados no epicarpo da jabuticaba são 250 vezes maiores do que os teores de flavonóides normalmente consumidos na polpa da fruta.

Amostra de caju (polpa congelada)

O cajueiro é uma planta brasileira, amplamente distribuída pelo litoral nordestino. Desde a época do Descobrimento, os índios já consumiam o caju como fruta fresca ou bebida fermentada. Pertence à família Anacardiaceae, possui coloração vermelha ou amarela, com cerca de 180 a 230 mg de vitamina C por 100g de suco. A semente do caju, presente na parte carnosa, quando torrada, tem alto valor comercial. Da castanha (semente e casca), extrai-se o fino óleo de amêndoas, de uso cosmético, medicinal e culinário. Cultivares: Comum (amarelo, vermelho ou mesclado) e Anão Precoce (Ruralnet-caju, 2003). Na polpa de caju congelada industrialmente, assim como na polpa da goiaba, foram detectadas baixas concentrações de flavonóides, com apenas 0,5 mg/100 g b.u. de quercetina (Tabela 9).

Amostra de graviola (polpa congelada)

A graviola é uma fruta tropical e seu cultivo é comum em pomares domésticos de cidades das regiões Norte e Nordeste. Apresenta casca de cor verde e polpa branca com sementes no seu interior. Sua polpa é macia, fibrosa e aromática, doce e ligeiramente ácida. Pode ser consumida *in natura*, mas é bastante apreciada em sucos, cremes e sorvetes (BRASIL, 2002).

De acordo com os dados da Tabela 9, na amostra de polpa congelada de graviola foram detectados baixos teores de flavanóis ou catequinas (3,3 mg/100 g b.u.).

Amostra de murici (polpa congelada)

Os frutos de murici ou muruci possuem coloração amarela quando maduros e são encontrados em regiões de savanas amazônicas, cerrado, campos e matas costeiras. Possuem sabor agridoce, são comestíveis *in natura*, sendo muito utilizados para o preparo de doces, licores, sucos e sorvetes, entre outros (BRASIL, 2002).

Na polpa congelada de murici foram detectados teores de quercetina de cerca de 2,1 mg/100 g b.u. e de catequina de cerca de 0,9 mg/100 g b.u. (Tabela 9).

Amostra de acerola (polpa congelada)

A acerola ou cereja-das-antilhas pertence à família Malpighiaceae. É originária das Antilhas, América Central e América do Sul. A acerola é muito rica em vitamina C, chegando à cifra de 1 a 2 g de ácido ascórbico por 100 g de suco. Os frutos conservam-se por apenas três dias após a colheita, daí a dificuldade da sua comercialização ao natural. A acerola pode ser usada na forma de refresco, sorvete, balas, cápsulas de vitamina C pura e geléia (Ruralnet-acerola, 2003).

Na polpa congelada de acerola o teor de flavonóis (quercetina e caempferol) detectado foi de 8,2 mg/100 g b.u. e o teor de antocianidinas (cianidina e pelargonidina) de cerca de 4,5 mg/100 g b.u. (Tabela 9). No trabalho realizado por Lima *et al.* (2000), foram detectados níveis de quercetina em torno de 9,3 a 20,2 mg/100 g e de antocianinas totais (não identificadas) entre 14,0 e 51,0 mg/100 g, nas seis variedades de acerola analisadas *in natura*. Nossos resultados foram menores possivelmente devido ao processamento da polpa do fruto.

Amostra de açaí (polpa congelada)

O açaizeiro, *Euterpe oleracea*, é uma palmeira tropical, nativa da Amazônia oriental, predominante ao longo dos igarapés e áreas com muita umidade. Seus frutos são usados para a produção de um refresco ("vinho" de açaí), base da alimentação da população ribeirinha da Amazônia oriental. A exploração do palmito do açaizeiro teve início a partir dos anos 60 devido à escassez de palmito na região Sudeste do país. Atualmente esta espécie é responsável por cerca de 90% da produção nacional de palmito (Ruralnet-açaí, 2003).

Na polpa congelada de açaí detectamos cerca de 3 mg/100 g b.u. da flavona luteolina glicosilada e de 36 mg/100 g da antocianina cianidina.

Amostra de amora (fruta fresca)

Em nosso trabalho o valor de antocianina obtido na amora (Tabela 9) corresponde a quase o dobro do valor mencionado por Clifford (2000a), de cerca de 115,0 mg/100 g de cianidina, de acordo com a sua revisão sobre o teor de antocianinas nos alimentos vegetais.

Os glicosídeos de antocianina detectados por García-Viguera *et al.* (1997) em geléia de amora foram cianidina 3-glicosídeo e cianidina 5-glicosídeo.

Para Jaakola *et al.* (2002), a produção de antocianinas nos tecidos das frutas é controlada de acordo com os níveis de desenvolvimento. Na amostra de mirtilo (pertencente à mesma família da amora) foi observada diminuição da expressão do flavonol quercetina e aumento da expressão das antocianinas no estágio final do amadurecimento.

Em nosso estudo não foi detectado nenhum flavonol na amora. De acordo com os dados do USDA-Flavonoids Database na amora são encontrados quercetina e epicatequina, com teores de 1,0 e 18,1 mg/100 g b.u.

Sabe-se que a quantidade de fenólicos da fruta está diretamente relacionada com o potencial antioxidante. Kalt *et al.* (1999) observaram no mirtilo que o conteúdo de fenólicos totais (expressos como ácido gálico

equivalente) e de antocianinas totais (expressas como malvidina 3-glicosídeo) foi de quatro e cerca de 25 vezes maior, quando comparado aos valores obtidos nos morangos e framboesas. Eles concluíram que o conteúdo de fenólicos totais e de antocianinas totais estava significativamente relacionado com a atividade antioxidante.

Dados a respeito da composição de flavonóides para a maioria destas amostras não foram relatados. A presença de antocianinas foi detectada nas polpas congeladas de acerola e de açaí, na amora (fruta fresca) e na casca da jabuticaba. A antocianina presente nas frutas analisadas é a cianidina, em sua forma glicosilada.

Em geral, nas amostras de polpas de frutas congeladas foi verificado baixo conteúdo total de flavonóides. Este resultado pode ser explicado devido ao fato de que as amostras realmente não possuem altas concentrações de flavonóides, somadas ao processamento industrial. As amostras de goiaba, caju e açaí foram pasteurizadas e congeladas de acordo com os dados da embalagem. No rótulo da embalagem de acerola não consta a informação referente à pasteurização. As amostras de polpa congelada de graviola e murici foram cedidas ao laboratório, oriundas do comércio local (Nordeste).

De acordo com a revisão feita por Peterson e Dwyer (1998a), a preparação dos alimentos vegetais ocasiona algumas perdas no conteúdo de flavonóides. Embora resistentes ao calor, oxigênio e moderados graus de acidez, os flavonóides podem ser reduzidos em relação ao seu conteúdo inicial total em cerca de 53% durante o cozimento. No estudo realizado por Häkkinen *et al.* (2000), cerca de 15 a 18% de quercetina são perdidos durante o cozimento dos morangos, na preparação de geléias. No processamento da sobremesa à base de mirtilo, muito apreciada na Finlândia, a redução é de 40%. Eles observaram que o efeito do congelamento em relação ao flavonol quercetina varia de acordo com as diferentes amostras analisadas e que alguns tipos de flavonóis (caempferol e miricetina) são mais suscetíveis às perdas durante o armazenamento a frio.

O armazenamento a baixas temperaturas pode contribuir tanto com efeitos positivos como negativos com relação à qualidade dos alimentos vegetais, dependendo do cultivar ou da espécie. No caso de vegetais contendo pigmentos vermelhos, o armazenamento a baixas temperaturas pode favorecer o aumento no teor de antocianinas. Kalt *et al.* (1999) verificaram um aumento na atividade antioxidante de frutas armazenadas a baixas temperaturas.

Ninfali e Bacchiocca (2003) ao avaliarem a atividade antioxidante de alimentos vegetais frescos e congelados obtiveram resultados interessantes. O espinafre fresco apresentou capacidade antioxidante 3,5 vezes menor quando comparado com a acelga, que possui teor de compostos fenólicos similar. As cebolas frescas apresentaram valores menores de compostos fenólicos, quando comparadas com as cebolas congeladas. O uso de ácido ascórbico para preservar a amostra de cebola congelada interferiu na análise e contribuiu com o aumento do valor da capacidade antioxidante nas cebolas. De modo geral, os vegetais congelados sofrem uma perda de 30 a 50% da capacidade antioxidante com relação aos alimentos frescos.

5.4 Estimativa da ingestão de flavonóides

A inter-relação dos fatores sócio-econômicos, culturais e nutricionais é um dos fatores que determina, de maneira geral, o consumo de bens, assim como o consumo dos alimentos. A monitorização do consumo alimentar da população fornece informações importantes que servem de subsídio para o planejamento de estratégias na área das ciências da nutrição e dos alimentos.

De acordo com os números obtidos da Pesquisa de Orçamentos Familiares –POF (IBGE, 1996) o consumo de alimentos no Brasil mostrou novas tendências. O brasileiro consome menos leite, fruta, hortaliça, arroz, pão, feijão, peixe e ovo. Porém, consome mais carne, frango, refrigerante, cerveja, biscoito e queijo. Em quase todas as camadas de renda, houve um decréscimo no consumo de frutas tropicais e um aumento no consumo de frutas de clima

temperado. O brasileiro consome menos abacate, abacaxi, banana, laranja, melão e tangerina e consome mais caqui, maçã, pêra e uva. Alguns dos motivos que influenciaram os padrões de consumo foram a redução nos custos das frutas de clima temperado e a importação de maçã dos países do Mercosul (APRAS, 2000).

Nas classes com maior poder aquisitivo, o consumo de frutas sofreu leves variações, enquanto nas camadas de renda inferior a escolha é feita, na maioria das vezes, pelo produto mais barato. A mesma avaliação pode ser aplicada às hortaliças, que registraram queda no consumo. O consumidor de baixa renda opta pelo alimento com mais densidade calórica, ou seja, o que sacia mais. Verificou-se também que o brasileiro tem consumido menos arroz graças ao barateamento de produtos como as massas. Além do mais, o feijão perdeu espaço devido à dificuldade e tempo despendido em seu preparo. Com relação às bebidas, o brasileiro consome mais refrigerantes, guaraná e laranja, cerveja e chá mate e consome menos água mineral, aguardente de cana e café (APRAS, 2000).

De acordo com a análise dos dados da Pesquisa de Orçamentos Familiares, realizada por Monteiro *et al.* (2000), são apontados como traços marcantes e negativos da evolução do padrão alimentar, entre 1988 e 1996, o aumento no consumo de ácidos graxos saturados em todas as áreas, ao lado da redução dos carboidratos completos, a redução do consumo de leguminosas, verduras e frutas e o aumento no consumo de açúcar. Apenas no Centro e no Sul do País foram registradas mudanças indicativas da adesão da população a dietas mais saudáveis.

A ingestão diária dos flavonóides é muito pouco documentada. Alguns estudos realizados na Holanda avaliaram a ingestão de apenas cinco compostos (apigenina, caempferol, luteolina, miricetina e quercetina), representantes de duas classes de flavonóides (flavonas e flavonóis). O uso dos flavonóis e as flavonas para a determinação da ingestão diária de flavonóides não é adequado, pois exclui outras classes de flavonóides como as

antocianinas, catequinas, flavanonas e isoflavonas, também presentes na dieta. Isto pode resultar numa subestimação com relação à contribuição dos flavonóides na dieta (Peterson e Dwyer, 1998a).

Nos países europeus, a ingestão de flavonóides pode variar entre 50 a 800 mg/dia dependendo do consumo de alimentos vegetais e bebidas específicas como vinho tinto, chá e cerveja. O vinho tinto e o chá contêm cerca de 200 mg de compostos fenólicos por copo de vinho ou xícara de chá. A variação no consumo destas bebidas é responsável pela ingestão de flavonóides nas diferentes dietas de cada país (Pietta, 2000).

Um cardápio foi elaborado com a finalidade de calcular a ingestão diária de flavonóides presentes nos alimentos vegetais normalmente consumidos. Os dados referentes às variedades mais consumidas foram fornecidos pela CEAGESP – Companhia de Entrepósitos e Armazéns Gerais do Estado de São Paulo, através do Boletim Anual sobre os Dados Estatísticos relativos aos Produtos Hortigranjeiros e Pescado afluídos ao ETSP (1999). Os dados sobre o conteúdo de flavonóides nos alimentos vegetais analisados *in natura* foram obtidos nas tabelas anteriormente mencionadas, adicionados dos dados obtidos pela revisão da literatura (Peterson e Dwyer, 1998b).

O cardápio elaborado (Tabelas 10 e 11) foi baseado no modelo de cardápio sobre ingestão de fibra alimentar apresentado por Caruso (1998) e contém a quantidade suficiente para atender as recomendações de energia para mulheres e para homens, considerando a faixa etária de 18 a 30 anos e atividade física moderada. Esse modelo de cardápio está de acordo com o Guia Alimentar, adotado oficialmente para a população norte-americana. O Guia Alimentar foi proposto através da Pirâmide Alimentar, publicada em 1992 pelo Departamento de Agricultura dos EUA.

Para estimar o teor de flavonóides em alguns alimentos usualmente consumidos na forma cozida (batata, vagem e brócolos), cerca de 53% foram descontados do conteúdo total, durante o processamento e cocção esta perda deve ser considerada no cálculo final (Peterson e Dwyer, 1998a).

Tabela 10. Cardápio proposto para mulheres

<i>Alimento</i>	<i>Medida Caseira</i>	<i>Peso Líquido</i>	<i>Flavonóides (mg/100g b.u.)</i>	<i>Flavonóides consumidos</i>	<i>Flavonóides Totais (mg)</i>
Desjejum					
Laranja pera	1 unid. Média	150 g	33,9 flavanona 0,9 flavonol	50,8 flavanona 1,3 flavonol	52,1
Colação					
Maçã gala	1 unid. Média	150 g	10,1 flavonol 2,1 hidrochalcona 15,5 catequina	15,1 flavonol 3,1 hidrochalcona 23,2 catequina	41,4
Almoço					
Arroz coz.	1 e ½ escum.	128 g	2,0 flavonol	2,6 flavonol	2,6
Feijão rajado coz.	3 colh. Sopa	54 g	4,0 flavonol 2,0 isoflavona 2,0 catequina 2,0 antocianina	2,2 flavonol 1,1 isoflavona 1,1 catequina 1,1 antocianina	5,5
Batata sauté*	6 colh. Sopa	96 g	2,0 flavonol 2,0 catequina	1,0 flavonol 1,0 catequina	2,0
Vagem coz.*	2 colh. Sopa	32 g	2,5 flavonol	0,4 flavonol	0,4
Cenoura crua	2 colh. Sopa	24 g	2,0 flavonol 2,0 antocianina	0,5 flavonol 0,5 antocianina	1,0
Banana nanica	1 unid. Grande	80 g	-	-	-
Jantar					
Brócolos coz*.	2 ramos médios	60 g	10,0 flavonol	3,0 flavonol	3,0
Alface crespa	2 pires chá	44 g	19,5 flavonol 0,2-luteolina	8,6 flavonol 0,09-luteolina	8,7
Tomate salada	1/3 unid.	30 g	0,5 flavonol 1,7 chalcona	0,15 flavonol 0,5 chalcona	0,6
Temperos TT/dia					
Alho	½ unidade	1,5 g	-	-	
Cebola branca	1 colh. Sopa	10 g	51,9 flavonol	5,2 flavonol	5,2
TOTAL					122,5

Tabela 11. Cardápio proposto para homens

<i>Alimento</i>	<i>Medida Caseira</i>	<i>Peso Líquido</i>	<i>Flavonóides (mg/100g b.u.)</i>	<i>Flavonóides consumidos</i>	<i>Flavonóides Totais (mg)</i>
Desjejum					
Laranja pera	1 unid. Média	150 g	33,9 flavanona 0,9 flavonol	50,8 flavanona 1,3 flavonol	52,1
Colação					
Maçã gala	1 unid. Média	150 g	10,1 flavonol 2,1 hidrochalcona 15,5 catequina	15,1 flavonol 3,1 hidrochalcona 23,2 catequina	41,4
Almoço					
Arroz coz.	3 escum.	255 g	2,0 flavonol	5,1 flavonol	5,1
Feijão rajado coz.	3 colh. Sopa	54 g	4,0 flavonol 2,0 isoflavona 2,0 catequina 2,0 antocianina	2,2 flavonol 1,1 isoflavona 1,1 catequina 1,1 antocianina	5,5
Batata sautê*	6 colh. Sopa	96 g	2,0 flavonol 2,0 catequina	1,0 flavonol 1,0 catequina	2,0
Vagem coz.*	2 colh. Sopa	32 g	2,5 flavonol	0,4 flavonol	0,4
Cenoura crua	2 colh. Sopa	24 g	2,0 flavonol 2,0 antocianina	0,5 flavonol 0,5 antocianina	1,0
Banana nanica	1 unid. Grande	80 g	-	-	-
Jantar					
Brócolos coz*.	2 ramos médios	60 g	10,0 flavonol	3,0 flavonol	3,0
Alface crespa	2 pires chá	44 g	19,5 flavonol 0,2-luteolina	8,6 flavonol 0,09-luteolina	8,7
Tomate salada	1/3 unid.	30 g	0,5 flavonol 1,7 chalcona	0,15 flavonol 0,5 chalcona	0,6
Temperos TT/dia					
Alho	1 unid.	3,0 g	-	-	
Cebola branca	1 e ½ colh. Sopa	15 g	51,9 flavonol	7,8 flavonol	7,8
TOTAL					128,6

De acordo com os resultados obtidos nas Tabelas 10 e 11, a população brasileira jovem adulta ingere, teoricamente, em média 125 mg de flavonóides ao dia, dentre os quais cerca de 40% são obtidos de frutas como a laranja e 33% da maçã, 7% das hortaliças folhosas como a alface e 5% da cebola, representante dos tubérculos.

Para estimar o consumo real de flavonóides em população adulta foram utilizados os dados expressos na Tabela 12.

Tabela 12. Ingestão estimada de flavonóides

Ingestão estimada de flavonóides	Fontes alimentares	População	Referência
74,4 mg/dia	laranja (70,2%) alface (8,9%) cebola (5,8%)	Censo Demográfico/SP Cesta Básica DIEESE (família composta 4 pessoas)	Barretto <i>et al.</i> , 1998
59,5 mg/dia – mulheres 77,1 mg/dia – homens	laranja (70%) alface (8,3%) tomate (2,3%)	559 adultos, entre 20-88 anos, moradores da cidade de Cotia, SP	Mattos e Martins, 2000
106,3 mg/dia	laranja (47,1%) rúcula (30%) alface (7,4%)	200 adultos, de 35 a 69 anos, participantes de um estudo de caso-controle Hospital Santa Cruz/ SP	Tomita e Cardoso, 2002
74,2 mg/dia	laranja (70,2%) alface (11,7%) tomate (2,6%)	145 mulheres estudantes universitárias, entre 17-25 anos, Universidade de Campinas, SP	Sampaio e Silva, 2002

A pesquisa de Barretto *et al.* (2000) baseada no Censo demográfico do IBGE de 1991 para estabelecer a família-referência e na Cesta Básica DIEESE e PROCON, teve origem na Pesquisa de Padrão de Vida e Emprego no Município de São Paulo. De acordo com os dados expressos na Tabela 12, a ingestão de flavonóides foi de 74,4 mg/dia por pessoa. As maiores fontes de flavonóides foram encontradas na laranja (70%), alface (8,9%) e cebola (5,8%).

No estudo de Mattos e Martins (2000) foi utilizada uma amostra da população do Município de Cotia, SP, composta por 559 indivíduos entre 20 a 88 anos. Pelos dados expressos na Tabela 12 o total de flavonóides ingeridos nesta população foi de 59,5 mg/dia para as mulheres e de 77,1 mg/dia para os homens. As maiores fontes de flavonóides foram encontradas na laranja (70%), alface (8,3%) e tomate (2,3).

Tomita e Cardoso (2002) avaliaram a adequação da lista de alimentos e das porções alimentares de Questionário Quantitativo de Freqüência Alimentar entre os participantes de um estudo de caso-controle do Hospital Santa Cruz, na cidade de São Paulo. Cerca de 200 indivíduos com idades entre 35 e 69 anos responderam a um inquérito recordatório de consumo alimentar. Pudemos verificar através destes dados (Tabela 12) que a ingestão total de flavonóides nesta população foi significativamente maior com relação aos outros grupos, com cerca de 106,3 mg/dia. As maiores fontes de flavonóides foram encontradas na laranja (47,1%), rúcula (30%) e alface (7,4%).

No estudo realizado por Sampaio e Pereira da Silva (2002) foram verificados o consumo, os hábitos e as preferências alimentares de 145 jovens mulheres universitárias da UNICAMP (SP), com idades variando entre 17 e 25 anos. Neste estudo, os hábitos alimentares, as preferências e o consumo foram determinados através de método histórico dietético. Ao considerarmos os dados de consumo das jovens universitárias expressos na Tabela 12, verificamos que a ingestão total de flavonóides nesta população foi de 74,2 mg/dia e que as maiores fontes de flavonóides foram encontradas na laranja (70,2%), alface (11,7%) e tomate (2,6%).

Nossos valores encontram-se ainda um pouco acima dos valores relatados em alguns outros países. Recentemente, na Dinamarca, o consumo de flavonas, flavonóis e flavanonas foi estimado em cerca de 28 mg/dia. Na Finlândia a média de consumo de 23 flavonóides diferentes, na forma de agliconas, foi de 55,2 mg/dia na qual as frutas contribuíram com 36,5 mg/dia seguido do chá, vinho e outras bebidas não alcoólicas (Lugási e Hóvari, 2000).

6. CONCLUSÕES

As maiores fontes de vegetais alimentícios que contribuem com teores elevados de flavonóides consumidos diariamente estão presentes na laranja (70%), na alface (9%) e no tomate (2,5%).

Os resultados demonstram que a população adulta brasileira, com idade compreendida entre 17 a 88 anos, consome mais flavonóides, em cerca de 82 mg/dia, quando comparada à população de outros países europeus, como no caso da Finlândia, com 55 mg/dia e da Dinamarca, com 28 mg/dia.

7. CONSIDERAÇÕES FINAIS

Em geral, nossos resultados sobre os teores de flavonóides são um pouco maiores do que os relatados por Hertog *et al.* (1992) e Justesen *et al.* (1998). Essas diferenças encontradas nos teores de flavonóides nos vegetais podem ser inerentes aos cultivares analisados, pela variabilidade sazonal e principalmente devido à metodologia aplicada. Os pesquisadores acima não detectaram a presença de luteolina nos extratos hidrolisados de alface e a chalconaringenina nos extratos hidrolisados de tomate, por exemplo.

Desde que a síntese de flavonóides é dependente de luz, o conteúdo de flavonóides nas amostras analisadas durante a primavera, em especial no mês de outubro, sofreu aumento significativo, conforme esperado. A variabilidade sazonal foi significativamente alta para os vegetais folhosos que apresentaram altos níveis de flavonóides durante a primavera, com exceção para as amostras de pimentão e para as maçãs.

Outros fatores também podem ter contribuído para destacar as diferenças encontradas nos teores de flavonóides, como a própria variabilidade entre os cultivares, o estágio de maturidade do fruto, além das condições de armazenamento da amostra no ponto de comércio.

O flavonóide encontrado em maior abundância nas amostras analisadas é o flavonol quercetina. As catequinas foram encontradas nas frutas como as maçãs, graviola e murici. Outros grupos de flavonóides também foram encontrados nas amostras analisadas, como o flavonol caempferol na rúcula e no almeirão, a flavona luteolina na alface, nos pimentões e no açaí, a antocianina cianidina nos alimentos vegetais de coloração vermelha.

Ao considerar que, entre as três variedades de pimentões, a mais consumida é o pimentão verde devido às razões econômicas, pode-se observar que mesmo com o efeito da sazonalidade e com as diferenças encontradas entre os cultivares o pimentão verde é ainda a melhor e mais barata fonte de

flavonas entre os pimentões analisados.

Os maiores teores de flavonóides totais foram encontrados nas cebolas brancas (cerca de 50 mg/100 g b.u.), nas cebolas roxas (40-100 mg/100 g b.u.), na alface roxa (cerca de 70 mg/100 g b.u.), na rúcula (40-120 mg/100 g b.u.) e no almeirão (18-38 mg /100 g b.u.).

Nas frutas o predomínio de flavonóides destacou-se na polpa da laranja (cerca de 40 mg/100 g b.u.), nas maçãs com tegumento (9,1-27,7 mg/100 g b.u.), e principalmente no tegumento das maçãs. Considerando o tegumento das maçãs como uma importante fonte de flavonóides, qualquer esforço para a promoção do consumo da maçã com o tegumento torna-se de grande valor em virtude de seus possíveis efeitos benéficos.

Nas frutas tropicais foi observado o predomínio das antocianinas na concentração de flavonóides totais em polpa de acerola congelada (4,5 mg/100 g b.u.), polpa de açaí congelada (cerca de 40 mg/100 g b.u.), no epicarpo da jabuticaba (245 mg/100 g b.u.) e principalmente na amostra de amora fresca (cerca de 300 mg/100 g b.u.).

8. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- AMAKURA, Y.; UMINO, Y.; TSUJI, S.; TONOGAI, Y. Influence of jam processing on the radical scavenging activity and phenolic content in berries. **J. Agric. Food Chem.**, Columbus, v.48, p. 6292-6297, 2000.
- ARABBI, P.R. Alimentos funcionais: aspectos gerais. **Nutrire, J. Brazilian Soc. Food Nutr.**, São Paulo, v.21, p. 87-102, 2001.
- ARAI, Y.; WATANABE, S.; KIMIRA, M.; SHIMOI, K.; MOCHIZUKI, R, KINAE, N. Dietary intakes of flavonols, flavones, and isoflavones by japanese women and the inverse correlation between quercetin intake and plasma LDL cholesterol concentration. **J. Nutr.**, Bethesda, v.130, p. 2243-2250, 2000.
- ARTS, I.C.W.; PUTTE, B.V.; HOLLMAN, P.C.H. Catechin contents of foods commonly consumed in the Netherlands. 1. Fruits, vegetables, staple foods, and processed foods. **J. Agric. Food Chem.**, Columbus, v.48, p. 1746-1751, 2000.
- ASSOCIAÇÃO PARANAENSE DE SUPERMERCADOS (APRAS). O que se come e por quê. **Rev. Supermix**, Curitiba, v.61, p. 11-15, 2000.
- ASSOCIATION OF OFFICIAL ANALYTICAL CHEMISTS. **Official Methods of Analysis of the Association of Official Analytical Chemists**. 13.ed. Washington: A.O.A.C., 1980. Cap.7, p.125.
- AWAD, M.A.; JAGER, A.; WESTING, L.M. Flavonoid and chlorogenic acid levels in apple fruit: characterization of variation. **Sci. Hortic.**, Canterbury, v.83, p. 249-263, 2000.
- AWAD, M.A.; WAGENMAKERS, P.S.; JAGER, A. Effects of light on flavonoid and chlorogenic acid levels in the skin of 'Jonagold' apples. **Sci. Hortic.**, Canterbury, v.88, p.289-298, 2001a.
- AWAD, M.A.; JAGER, A.; VAN DER PLAS, L.H.W.; VAN DER KROL, A.R. Flavonoid and chlorogenic acid levels in skin of 'Elstar' and 'Jonagold' apples during development and ripening. **Sci. Hortic.**, Canterbury, v.90, p.
-

- 69-83, 2001b.
- BARRETTO, S.A.J.; CYRILLO, D.C.; COZZOLINO, S.M.F. Análise nutricional e complementação alimentar de cesta básica derivada do consumo. **Rev. Saúde Pública**, São Paulo, v.32, p. 29-35, 1998.
- BIRT, D.F.; HENDRICH, S.; WANG, W. Dietary agents in cancer prevention: flavonoids and isoflavonoids. **Pharmacol. Ther.**, New York, v.90, p. 157-177, 2001.
- BRASIL. Ministério da Saúde. Secretaria de Políticas de Saúde. Coordenação Geral da Política de Alimentação e Nutrição. **Alimentos regionais brasileiros**. Brasília: Ministério da Saúde, 2002. 140p.
- CANTOS, E.; GARCIA-VIGUERA, C.; PASCUAL-TERESA, S.; TOMÁS-BARBERÁN, F. Effect of postharvest ultraviolet irradiation on resveratrol and other phenolics of cv. Napoleon table grapes. **J. Agric. Food Chem.**, Columbus, v.48, p. 4606-4612, 2000.
- CAO, G.; SOFIC, E.; PRIOR, R.L. Antioxidant and prooxidant behavior of flavonoids: structure-activity relationships. **Free Radical Biol. Med.**, New York, v.22, p. 749-760, 1997.
- CARUSO, L. **Avaliação da Qualidade analítica dos dados sobre Fibra Alimentar: um Modelo**. São Paulo, 1998. 95p. Dissertação Mestrado-Faculdade de Ciências Farmacêuticas –Universidade de São Paulo.
- COMPANHIA DE ENTREPÓSITOS E ARMAZÉNS GERAIS DO ESTADO DE SÃO PAULO (CEAGESP). Ministério da Agricultura e do Abastecimento. **Boletim Anual - Dados Estatísticos relativos aos Produtos Hortigranjeiros e Pescado afluídos ao ETSP**, 1999, n.p.
- CLIFFORD, M.N. Anthocyanins-nature, occurrence and dietary burden. **J. Sci. Food Agric.**, Bognor Regis, v.80, p. 1063-1072, 2000. [Review].
- COOK, N.C.; SAMMAN, S. Flavonoids: chemistry, metabolism, cardioprotective effects, and dietary sources. **J. Nutr. Biochem.**, New York, v.7, p. 66-76, 1996.
- CORDENUNSI, B.R.; NASCIMENTO, J.R.O.; GENOVESE, M.I.; LAJOLO, F.M.

- Influence of cultivar on quality parameters and chemical composition of strawberry fruits grown in Brazil. **J. Agric. Food Chem.**, Columbus, v.50, p. 2581-2586, 2002.
- CROZIER, A.; LEAN, M.E.J.; MCDONALD, M.S.; BLACK, C. Quantitative analysis of the flavonoid content of commercial tomatoes, onions, lettuce and celery. **J. Agric. Food Chem.**, Columbus, v.45, p. 590-595, 1997.
- DEGENHARDT, A.; KNAPP, H.; WINTERHALTER, P. Separation and purification of anthocyanins by high-speed countercurrent chromatography and screening for antioxidant activity. **J. Agric. Food Chem.**, Columbus, v.48, p. 338-343, 2000.
- DILLARD, C.J., GERMAN, B. Phytochemicals: nutraceuticals and human health. **J. Sci. Food Agric.**, Bognor Regis, v.80, p. 1744-1756, 2000. [Reviews].
- DREWNOWSKI, A.; GOMEZ-CARNEROS, C. Bitter taste, phytonutrients, and the consumer: a review. **Am. J. Clin. Nutr.**, Bethesda, v.72, p. 1424-1435, 2000.
- DUPONT, M.S.; MONDIN, Z.; WILLIAMSON, G.; PRICE, K. P. Effect of variety, processing, and storage on the flavonoid glycoside content and composition of lettuce and endive. **J. Agric. Food Chem.**, Columbus, v.48, p. 3957-3964, 2000.
- DYRBY, M.; WESTERGAARD, N.; STAPELFELDT, H. Light and heat sensitivity of red cabbage extract in soft drink model systems. **Food Chem.**, Oxford, v.72, p. 431-437, 2001.
- EWALD, C.; FJELKNER-MODIG, S.; JOHANSSON, K.; SJÖHOLM, I.; AKESSON, B. Effect of processing on major flavonoids in processed onions, green beans, and peas. **Food Chem.**, Oxford, v.64, p. 231-235, 1999.
- FALCÃO, L.; GAUCHE, C.; BARROS, D.; FETT, R.; OGLIARI, P.; LUIZ, M.T.B. Estudo da estabilidade de antocianinas de repolho roxo (*Brassica oleraceae* L.) adicionadas de ácido tânico. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE CIÊNCIA E TECNOLOGIA DE ALIMENTOS, 18, Porto Alegre, 2002. **Anais**. Porto Alegre, 2002. p. 2241-2244.

- GARCÍA-VIGUERA, C.; ZAFRILLA, P.; TOMÁS-BARBERÁN, F.A. Determination of Authenticity of fruit jams by HPLC analysis of anthocyanins. **J. Sci. Food Agric.**, Bognor Regis, v.73, p. 207-213, 1997.
- GIL, M.I.; HOLCROFT, D.M.; KADER, A.A. Changes in strawberry anthocyanins and other polyphenols in response to carbon dioxide treatments. **J. Agric. Food Chem.**, Columbus, v.45, p. 1662-1667, 1997.
- GIL, M.I.; FERRERES, F.; TOMÁS-BARBERÁN, F.A. Effect of postharvest storage and processing on the antioxidant constituents (flavonoids and vitamin C) of fresh-cut spinach. **J. Agric. Food Chem.**, Columbus, v.47, p. 2213-2217, 1999.
- GIL, M.I.; TOMÁS-BARBERÁN, F.A.; HESS-PIERCE, B.; HOLCROFT, D.M.; KADER, A.A. Antioxidant activity of pomegranate juice and its relationship with phenolic composition and processing. **J. Agric. Food Chem.**, Columbus, v.48, p. 4581-4589, 2000.
- GORINSTEIN, S.; ZEMSER, M.; HARUENKIT, R.; CHUTHAKORN, R.; GRAUER, F.; MARTIN-BELLOSO, O.; TRAKHTENBERG, S. Comparative content of total polyphenols and dietary fiber in tropical fruits and persimmon. **J. Nutr. Biochem.**, New York, v.10, p. 367-371, 1999.
- HÄKKINEN, S.H.; KÄRENLAMPI, S. O; MYKKÄNEN, H.M.; TÖRRÖNEN, A.R. Influence on domestic processing and storage on flavonol contents in berries. **J. Agric. Food Chem.**, Columbus, v.48, p. 2960-2965, 2000.
- HÄKKINEN, S.H.; TÖRRÖNEN, A.R. Content of flavonols and selected phenolic acids in strawberry and *Vaccinium* species: influence of cultivar, cultivation site and technique. **Food Res. Int.**, Oxford, v.33, p. 517-524, 2000.
- HARBORNE, J.B.; WILLIAMS, C.A. Advances in flavonoid research since 1992. **Phytochemistry**, Oxford, v.55, p. 481-504, 2000.
- HERTOG, M.G.L.; HOLLMAN, P.C.H.; KATAN, M.B. Content of potentially anticarcinogenic flavonoids of 28 vegetables and 9 fruits commonly consumed in The Netherlands. **J. Agric. Food Chem.**, Columbus, v.40, p. 2379-2383, 1992.
-

- HERTOG, M.G.L.; HOLLMAN, P.C.H.; KATAN, M.B, KROMHOUT, D. Intake of potentially anticarcinogenic flavonoids and their determinants in adults in the Netherlands. **Nutr. Cancer**, Mahwah, v.20, p. 21-29, 1993a.
- HERTOG, M.G.L.; HOLLMAN, P.C.H.; VAN DE PUTTE, B. Content of potentially anticarcinogenic flavonoids of tea infusion, wines and fruit juices. **J. Agric. Food Chem.**, Columbus, v.41, p. 1242-1246, 1993b.
- HOLLMAN, P.C.H.; DE VRIES, J.H.M.; VAN LEEUWEN, S.D.; MENGELERS, M.J.B.; KATAN, M.B. Absorption of dietary quercetin glycosides and quercetin in healthy ileostomy volunteers. **Am. J. Clin. Nutr.**, Bethesda, v.62, p. 1276-1282, 1995.
- HOLLMAN, P.C.H.; HERTOG, M.G.L.; KATAN, M.B. Analysis and health effects of flavonoids. **Food Chem.**, Oxford, v.57, p. 43-46, 1996.
- HOLLMAN, P.C.H.; KATAN, M.B. Absorption, metabolism and health effects of dietary flavonoids in man. **Biomed. Pharmacother.**, Paris, v.51, p. 305-310, 1997a.
- HOLLMAN, P.C.H.; VAN TRIJP, J.M.P.; BUYSMAN, M.N.C.P.; GAAG, M.S.; MENGELERS, M.J.B, DE VRIES, J.H.M.; KATAN, M.B. Relative bioavailability of the antioxidant flavonoid quercetin from various foods in man. **FEBS Lett.**, Amsterdam, v.418, p. 152-156, 1997b.
- HOLLMAN, P.C.H.; KATAN, M.B. Dietary flavonoids : Intake, health effects and Bioavailability. **Food Chem. Toxicol.**, Oxford, v.37, p. 937-942, 1999.
- HOLLMAN, P.C.H.; ARTS, I.C.W. Flavonols, flavones and flavanols- nature, occurrence and dietary burden. **J. Sci. Food Agric.**, Bognor Regis, v.80, p. 1081-1093, 2000. [Review].
- HOLLMAN, P.C.H. Evidence for health benefits of plant phenols: local or systemic effects? **J. Sci. Food Agric.**, Bognor Regis, v.81, p. 842-852, 2001.
- HOWARD, L.R.; TALCOTT, S.T.; BRENES, C.H.; VILLALON, B. Changes in phytochemical and antioxidant activity of selected pepper cultivars (*Capsicum Species*) as influenced by maturity. **J. Agric. Food Chem.**,

- Columbus, v.48, p. 1713-1720, 2000.
- INSTITUTO BRASILEIRO DE GEOGRAFIA E ESTATÍSTICA (IBGE). Ministério do Planejamento e Orçamento. **Pesquisa de Orçamentos Familiares 1995-1996: consumo alimentar domiciliar per capita: regiões Metropolitanas**. Brasília: Município de Goiânia, 1998. v.2, 137p.
- INSTITUTO NACIONAL DE ALIMENTOS E NUTRIÇÃO (INAN), Ministério da Saúde. **Estudo multicêntrico sobre consumo alimentar**. Documento Final. Campinas, 1996, n.p.
- IWASHINA, T. The structure and distribution of the flavonoids in plants. **J. Plant Res.**, Tokyo, v.113, p. 287-299, 2000.
- JAAKOLA, L.; MÄÄTTÄ, K.; PIRTTILÄ, A.M.; TÖRRÖNEN, R.; KÄRENLAMPI, S.; HOHTOLA, A. Expression of genes involved in anthocyanin biosynthesis in relation to anthocyanin, proanthocyanidin, and flavonol levels during bilberry fruit development. **Plant Physiol.**, Rockville, v.130, p. 729-739, 2002.
- JOLY, A.B. **Botânica: introdução à taxonomia vegetal**. 7.ed. São Paulo: Nacional, 1985. 777p.
- JUSTESEN, U.; KNUTHSEN, P.; LETH, T. Quantitative analysis of flavonols, flavones, and flavanones in fruits, vegetables and beverages by high-performance liquid chromatography with photo-diode array and mass spectrometric detection. **J. Chromatogr. A**, Amsterdam, v.799, p. 101-110, 1998.
- JUSTESEN, U.; KNUTHSEN, P. Composition of flavonoids in fresh herbs and calculation of flavonoid intake by use of herbs in traditional Danish dishes. **Food Chem.**, Oxford, v.73, p. 245-250, 2001.
- KALT, W.; FORNEY, C.F.; MARTIN, A.; PRIOR, R.L. Antioxidant capacity, vitamin C, phenolics, and anthocyanins after fresh storage of small fruits. **J. Agric. Food Chem.**, Columbus, v.47, p. 4638-4644, 1999.
- KING, A.; YOUNG, G. Characteristics and occurrence of phenolic phytochemicals. **J. Am. Diet. Assoc.**, Chicago, v.99, n.2, p. 213-218, 1999.

- KUHNAU, J. The Flavonoids: a class of semi-essential food components: their role in human nutrition. **World Rev. Nutr. Diet.**, Basel, v.24, p. 117-191, 1976.
- LAJOLO, F.M. Grupo de trabalho: composição de Alimentos. **Bol. Soc. Bras. Cienc. Tecnol. Aliment.**, Campinas, v.29, n.1, p. 57-69, 1995.
- LAJOLO, F.M.; MENEZES, E.W. Uma análise retrospectiva e contextualização da questão. **Bol. Soc. Bras. Cienc. Tecnol. Aliment.**, Campinas, v.31, n.2, p. 90-92, 1997.
- LAJOLO, F.M. Functional foods: Latin American perspectives. **Br. J. Nutr.**, Wallingford, v.88, suppl. 2, p. 145-150, 2002.
- LARRAURÍ, J.A.; RUPÉREZ, P.; BRAVO, L.; SAURA-CALIXTO, F. High dietary fibre powders from orange and lime peels: associated polyphenols and antioxidant capacity. **Food Res. Int.**, Oxford, v.29, p. 757-762, 1996.
- LE GALL, G.; DUPONT, M.S.; MELLON, F.A.; DAVIS, A.L.; COLLINS, G.J.; VERHOEYEN, M.E.; COLQUHOUN, I.J. Characterization and content of flavonoid glycosides in genetically modified tomato (*Lycopersicon esculentum*) fruits. **J. Agric. Food Chem.**, Columbus, v.51, p. 2438-2446, 2003.
- LIMA, V.L.A.G.; MELO, E.A.; LIMA, L.S.; NASCIMENTO, P.P. Flavonóides em seleções de acerola (*Malpighia sp* L.). Teor de antocianinas e flavonóis totais. **Ciência Rural**, Santa Maria, v.30, n.6, p. 1063-1064, 2000.
- LUGASI, A.; HÓVÁRI, J. Flavonoid aglycons in foods of plant origin: vegetables. **Acta Alimentaria**, Budapest, v.29, n.4, p. 345-352, 2000.
- MACHEIX, J.J.; FLEURIET, A.; BILLOT, J. **Fruit Phenolics**. Boca Raton: CRC Press, 1990. 378p.
- MALIEN-AUBERT, C.; DANGLES, O.; AMIOT, M.J. Color stability of commercial anthocyanin-based extracts in relation to the phenolic composition. Protective effects by intra and intermolecular copigmentation. **J. Agric. Food Chem.**, Columbus, v.49, p. 170-176, 2001.
- MANN, J. **Chemical aspects of biosynthesis**. Oxford Science Publications,

1994. 92p. (Oxford chemistry primers, 20).
- MARASCHIN, R.P.; IASSEN, C.; CAPEL, L.S.; OLTRAMARI, A.C.; ZANUS, C.; CIMADON, A.M.A.; SCORTEGAGNA, E.; CARO, M.S.B.; MARASCHIN, M. Análise de protocolos de extração de antocianinas a partir de resíduos da fermentação vinícola. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE CIÊNCIA E TECNOLOGIA DE ALIMENTOS, 18, Porto Alegre, 2002. **Anais**. Porto Alegre, 2002. p. 3313-3317.
- MARKHAM, K.R. **Techniques of Flavonoid Identification**. London, New York: Academic Press, 1982. 113p.
- MATTILA, P.; ASTOLA, J.; KUMPULAINEN, J. Determination of flavonoids in plant material by HPLC with diode-array and electro-array detections. **J. Agric. Food Chem.**, Columbus, v.48, n.12, p. 5834-5841, 2000.
- MATTOS, L.L.; MARTINS, I.S. Consumo de fibras alimentares em população adulta. **Rev. Saúde Pública**, São Paulo, v.34, p. 50-55, 2000.
- MERKEN, H.M.; BEECHER, G.R. Measurement of food flavonoids by high-performance liquid chromatography: a review. **J. Agric. Food Chem.**, Columbus, v.48, n.3, p. 577-599, 2000.
- MITHEN, R.F.; DEKKER, M.; VERKERK, R.; RABOT, S.; JOHNSON, I.T. The nutritional significance, biosynthesis and bioavailability of glucosinolates in human foods. **J. Sci. Food. Agric.**, Bognor Regis, v.80, p. 967-984, 2000. [Review].
- MONTEIRO, C.A.; MONDINI, L.; COSTA, R.B.L. Mudanças na composição e adequação nutricional da dieta familiar nas áreas metropolitanas do Brasil (1988-1996). **Rev. Saúde Pública**, São Paulo, v.34, n.3, p. 251-258, 2000.
- MUIR, S.R.; COLLINS, G.J.; ROBINSON, S.; HUGHES, S.; BOVY, A.; RIC DE VOS, C.H.; VAN TUNEN, A.J.; VERHOEYEN, M.E. Overexpression of *Petunia* chalcone isomerase in tomato results in fruit containing increased levels of flavonols. **Nat. Biotechnol.**, Brentwood, v.19, p. 470-474, 2001.
- NAKAMURA, Y., WATANABE, S.; MIYAKE, N.; KOHNO, H.; OSAWA, T. Dihydrochalcones: evaluation as novel radical scavenging antioxidants. **J.**
-

- Agric. Food Chem.**, Columbus, v.51, p. 3309-3312, 2003.
- NINFALI, P.; BACCHIOCCA, M. Polyphenols and antioxidant capacity of vegetables under fresh and frozen conditions. **J. Agric. Food Chem.**, Columbus, v.51, p. 2222-2226, 2003.
- OLIVEIRA, T.T.; GOMES, S.M.; NAGEM, T.J.; COSTA, N.M.B.; SECOM, P.R. Efeito de diferentes doses de flavonóides em ratos hiperlipidêmicos. **Rev. Nutr.** Campinas, v.15, n.01, p. 45-51, 2002.
- PASCAL, G. Functional Foods in the European Union. **Nutr. Rev.**, New York, v.54, n.11, p. 29-32, 1996.
- PETERSON, J.; DWYER, J. Flavonoids: dietary occurrence and biochemical activity. **Nutr. Res.**, New York, v.18, n.12, p. 1995-2018, 1998a.
- PETERSON, J.; DWYER, J. Taxonomic classification helps identify flavonoid-containing foods on a semiquantitative food frequency questionnaire. **J. Am. Diet. Assoc.**, Chicago, v.98, n.6, p. 677-682, 1998b.
- PICCAGLIA, R.; MAROTTI, M.; BALDONI, G. Factors influencing anthocyanin content in red cabbage (*Brassica oleraceae* var *capitata* L. f *rubra* (L) Thell). **J. Sci. Food Agric.**, Bognor Regis, v.82, p. 1504-1509, 2002.
- PIETTA, P.G. Flavonoids as antioxidants. **J. Nat. Prod.**, Columbus, v.63, p. 1035-1042, 2000.
- PIGNATELLI, P.; PULCINELLI, F.M.; CELESTINI, A.; LENTI, L.; GHISELLI, A.; GAZZANIGA, P.P.; VIOLI, F. The flavonoids quercetin and catechin synergistically inhibit platelet function by antagonizing the intracellular production of hydrogen peroxide. **Am. J. Clin. Nutr.**, Bethesda, v.72, p. 1150-1155, 2000.
- PRICE, K.R., RHODES, M.J.C. Analysis of the major flavonol glycosides present in four varieties of onion (*Allium cepa*) and changes in composition resulting from autolysis. **J. Sci. Food Agric.**, Bognor Regis, v.74, p. 331-339, 1997.
- PRICE, K.R., CASUSCELLI, F.; COLQUHOUN, I.J.; RHODES, M.J.C. Composition and content of flavonol glycosides in broccoli florets (*Brassica*

- oleraceae*) and their fate during cooking. **J. Sci. Food Agric.**, Bognor Regis, v.77, p. 468-472, 1998.
- PRICE, K.R.; PROSSER, T.; RICHTIN, A.M.F.; RHODES, M.J.C. A comparison of the flavanol content and composition in dessert, cooking and cider-making apples; distribution within the fruit and effect of juicing. **Food Chem.**, Oxford, v.66, p. 489-494, 1999.
- RHODES, M.J.C; PRICE, K.R. Analytical problems in the study of flavonoid compounds in onions. **Food Chem.**, Oxford, v.57, p. 113-117, 1996.
- ROBARDS, K.; PRENZLER, P.D.; TUCKER, G.; SWATSITANG, P.; GLOVER, W. Phenolic compounds and their role in oxidative processes in fruits. **Food Chem.**, Oxford, v.66, p. 401-436, 1999.
- ROBINSON, T. Flavonoids and related compounds. In:_____. **The organic constituents of higher plants: their chemistry and interrelationships**. 6.ed. North Amherst: Cordus Press, 1991. Cap.9, 346 p.
- ROWLAND, I. Optimal nutrition: fibre and phytochemicals. **Proc. Nut. Soc.**, Wallingford, v.58, p. 415-419, 1999.
- RURALNET. Agricultura. Frutíferas. **Acerola**. Disponível em <http://www.ruralnet.com.br/frutiferas/acerola.asp>. Acesso em: 07 fev. 2003.
- RURALNET. Agricultura. Industriais. **Palmito-Açaí**. Disponível em <http://www.ruralnet.com.br/industriais/acai.asp>. Acesso em 07 fev. 2003.
- RURALNET. Agricultura. Hortaliças. **Alface**. Disponível em <http://www.ruralnet.com.br/hortalicas/alface.asp>. Acesso em 07 fev. 2003.
- RURALNET. Agricultura. Frutíferas. **Caju**. Disponível em <http://www.ruralnet.com.br/frutiferas/caju.asp>. Acesso em 07 fev. 2003.
- RURALNET. Agricultura. Hortaliças. **Cebola**. Disponível em <http://www.ruralnet.com.br/hortalicas/cebola.asp>. Acesso em 07 fev. 2003.
- RURALNET. Agricultura. Frutíferas. **Goiaba**. Disponível em <http://www.ruralnet.com.br/frutiferas/goiaba.asp>. Acesso em 07 fev. 2003.
- RURALNET. Agricultura. Frutíferas. **Laranja**. Disponível em <http://www.ruralnet.com.br/frutiferas/laranja.asp>. Acesso em 07 fev. 2003.
-

- RURALNET. Agricultura. Frutíferas. **Maçã**. Disponível em <http://www.ruralnet.com.br/futiferas/maca.asp>. Acesso em 07 fev. 2003.
- RURALNET. Agricultura. Hortaliças. **Repolho**. Disponível em <http://www.ruralnet.com.br/hortalicas/repolho.asp>. Acesso em 07 fev. 2003.
- RURALNET. Agricultura. Hortaliças. **Tomate**. Disponível em <http://www.ruralnet.com.br/hortalicas/tomate.asp>. Acesso em 07 fev. 2003.
- SAKAKIBARA, H.; HONDA, Y.; NAKAGAWA, S.; ASHIDA, H.; KANAZAWA, K. Simultaneous determination of all polyphenols in vegetables, fruits, and teas. **J. Agric. Food Chem.**, Columbus, v.51, p. 571-581, 2003.
- SAMPAIO, K.L.; SILVA, M.A.A.P. Consumo, hábitos e preferências de jovens brasileiras universitárias. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE CIÊNCIA E TECNOLOGIA DE ALIMENTOS, 18, Porto Alegre, 2002. **Anais**. Porto Alegre, 2002. p.3665-3668.
- SEERAM, N.P.; NAIR, M.G. Inhibition of lipid peroxidation and structure activity related studies of the dietary constituents anthocyanins, anthocyanidins, and catechins. **J. Agric. Food Chem.**, Columbus, v.50, p. 5308-5312, 2002.
- SKIBOLA, C.F.; SMITH, M.T. Potential health impacts of excessive flavonoid intake. **Free Rad. Biol. Med.**, New York, v.29, p.375-383, 2000.
- SOARES, S.E. Ácidos fenólicos como antioxidantes. **Rev Nutr.**, Campinas, v.15, p. 71-81, 2002.
- SOUZA, A.G.C.; SOUZA, N.R.; SILVA, S.E.L.; NUNES, C.D.N.; CANTO, A.C.; CRUZ, L.A.A. **Fruteiras da Amazônia**. Manaus: Embrapa-SPI, 1996.v.1, 204p. (Biblioteca botânica, v.1).
- STAFFORD, H.A. **Flavonoid metabolism**. Boca Raton: CRC Press, 1990. 298p.
- STEINMETZ, K.A.; POTTER, J.D. Vegetables, fruit, and cancer prevention: a review. **J. Am. Diet. Assoc.**, Chicago, v.96, p. 1027-1039, 1996.
- STEWART, A.J.; BOZONNET, S.; MULLEN, W.; JENKINS, G.I.; LEAN, M.E.J.; CROZIER, A. Occurrence of flavonols in tomatoes and tomato-based products. **J. Agric. Food Chem.**, Columbus, v.48, p. 2663-2669, 2000.

- STOBIECKI, M. Application of mass spectrometry for identification and structural studies of flavonoid glycosides. **Phytochemistry**, Oxford, v.54, p. 237-256, 2000.
- TOMÁS-BARBERÁN, F.A.; CLIFFORD, M.N. Flavanones, chalcones, and dihydrochalcones: nature, occurrence and dietary burden. **J. Sci. Food Agric.**, Bognor Regis, v.80, p. 1073-1080, 2000. [Review].
- TOMITA, L.Y., CARDOSO, M.A. Avaliação da lista de alimentos e porções alimentares de Questionário Quantitativo de Frequência Alimentar em população adulta. **Cad. Saúde Pública**, v.18, p. 1747-1756, 2002.
- UNITED STATES. Department of Agriculture. Flavonoid Database – USDA Database for the flavonoid content of selected foods. U.S., march 2003. Disponível em <http://www.nal.usda.gov/fnic/foodcom>. Acesso em: 07 abr. 2003.
- VICKERY, M.L.; VICKERY, B. **Secondary plant metabolism**. London: MacMillan Press, 1981. 335p.
- VISIOLI, F.; BORSANI, L.; GALLI, C. Diet and prevention of coronary heart disease: the potential role of phytochemicals. **Cardiovasc. Res.**, Amsterdam, v.47, p. 419-425, 2000.
- WINKEL-SHIRLEY, B. Flavonoid biosynthesis: a colorful model for genetics, biochemistry, cell biology and biotechnology. **Plant Physiol.**, Rockville, v.126, p. 485-493, 2001.
-

ANEXOS

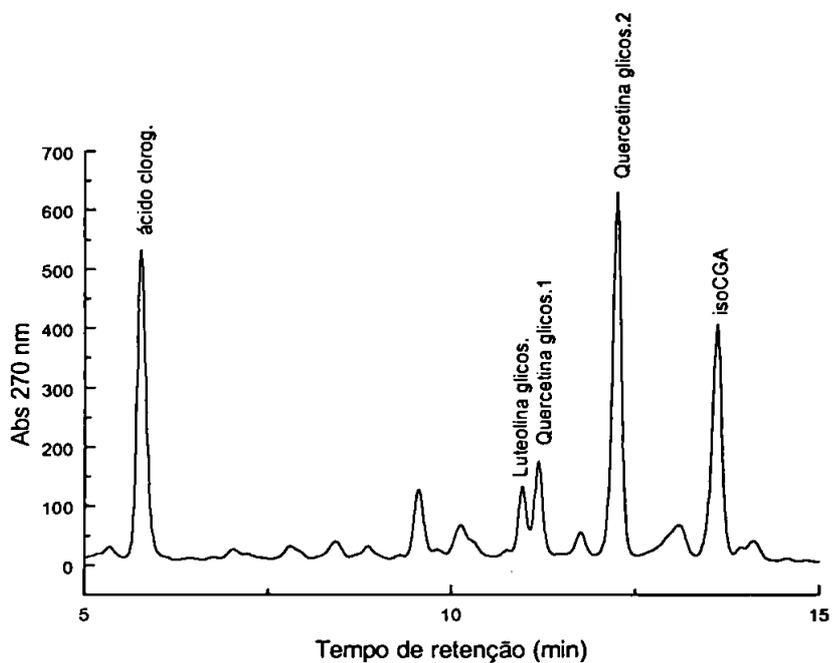


Figura A 1. Cromatograma dos flavonóides extraídos na amostra de alface crespa, obtidos por CLAE e monitorados a 270 nm

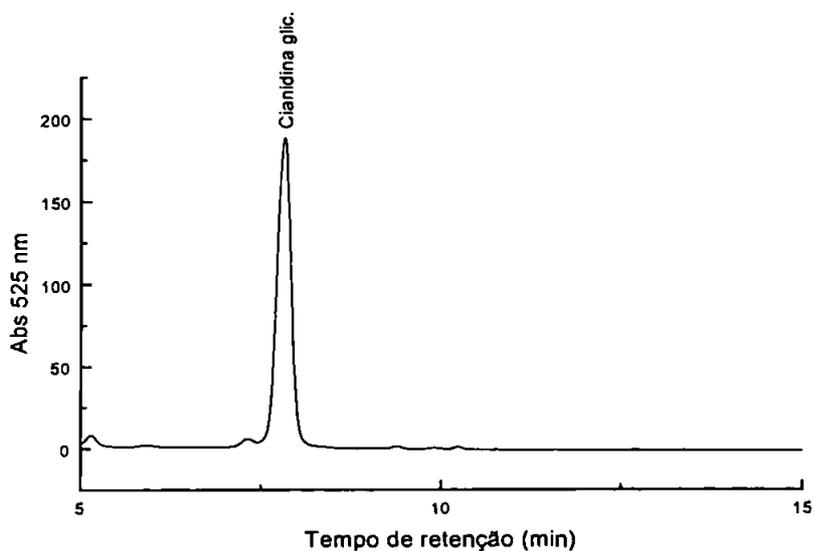


Figura A 2. Cromatograma da antocianina extraída na amostra de alface roxa, obtida por CLAE e monitorada a 525 nm

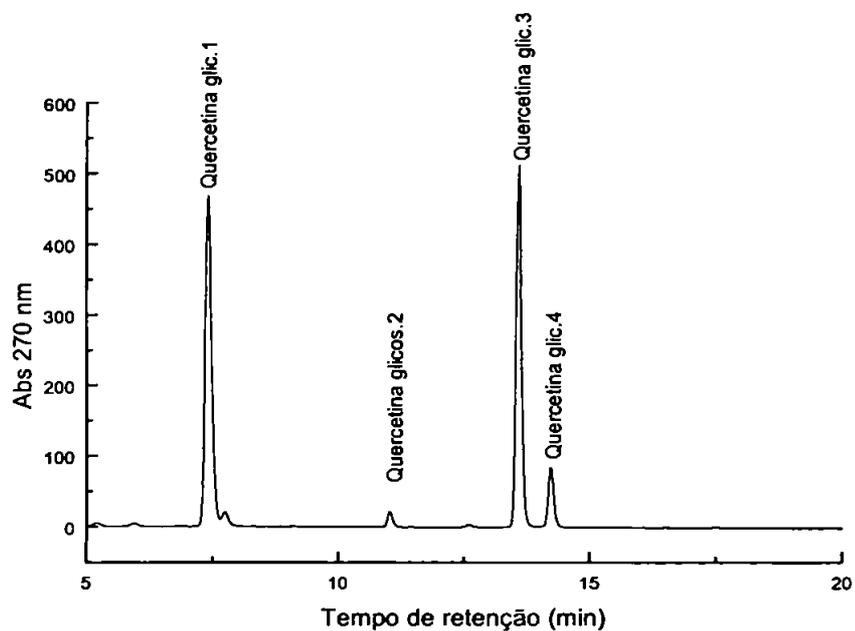


Figura A 3. Cromatograma dos flavonóides extraídos na amostra de cebola branca, obtidos por CLAE e monitorados a 270 nm

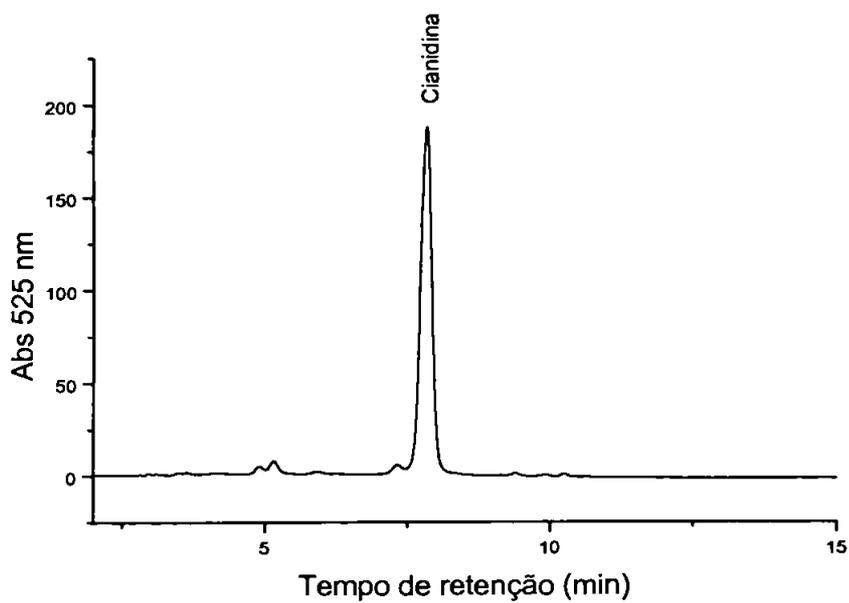


Figura A 4. Cromatograma da antocianina extraída na amostra de cebola roxa, obtida por CLAE e monitorada a 525 nm

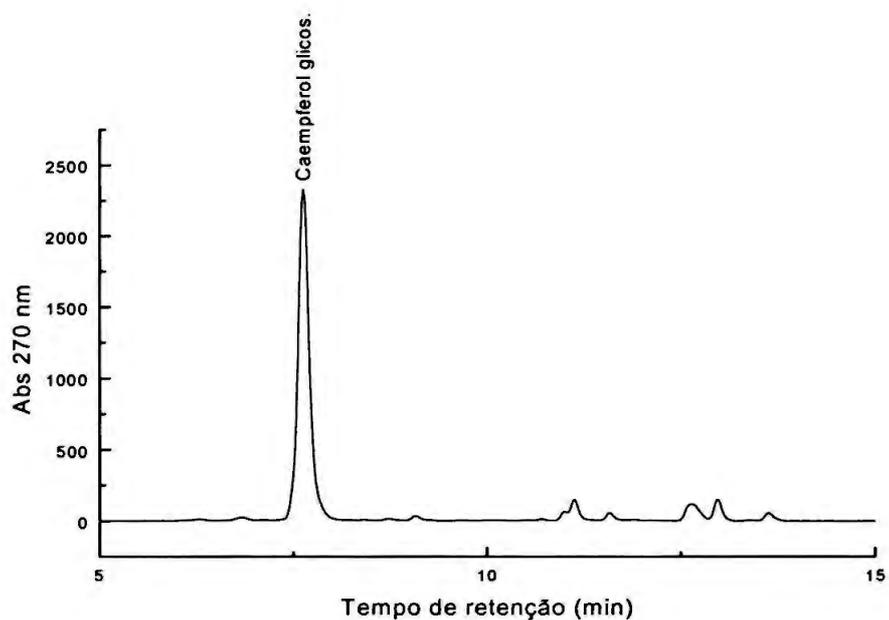


Figura A 5. Cromatograma dos flavonóides extraídos na amostra de rúcula, obtidos por CLAE e monitorados a 270 nm

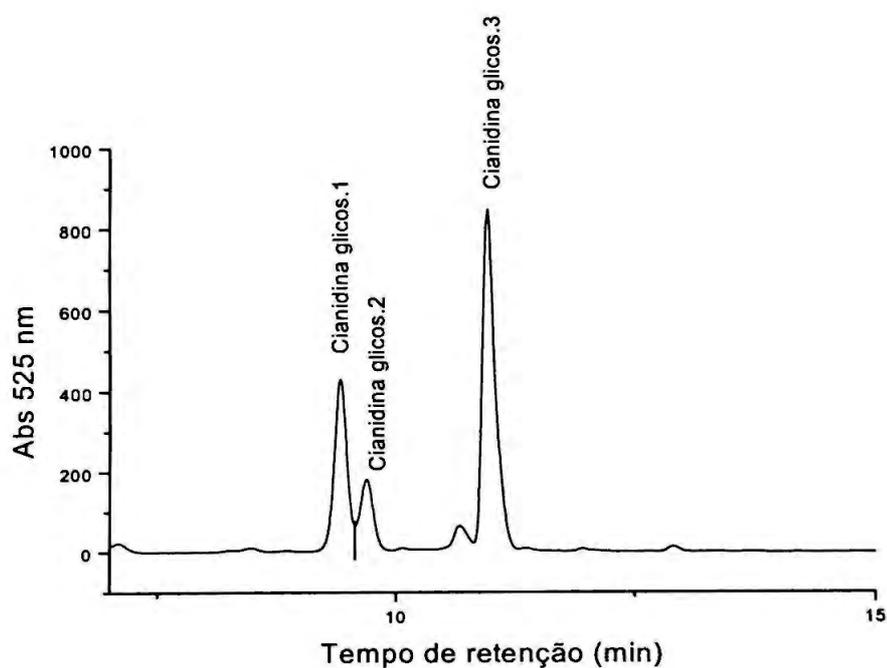


Figura A 6. Cromatograma das antocianinas extraídas na amostra de repolho roxo, obtidas por CLAE e monitoradas a 525 nm

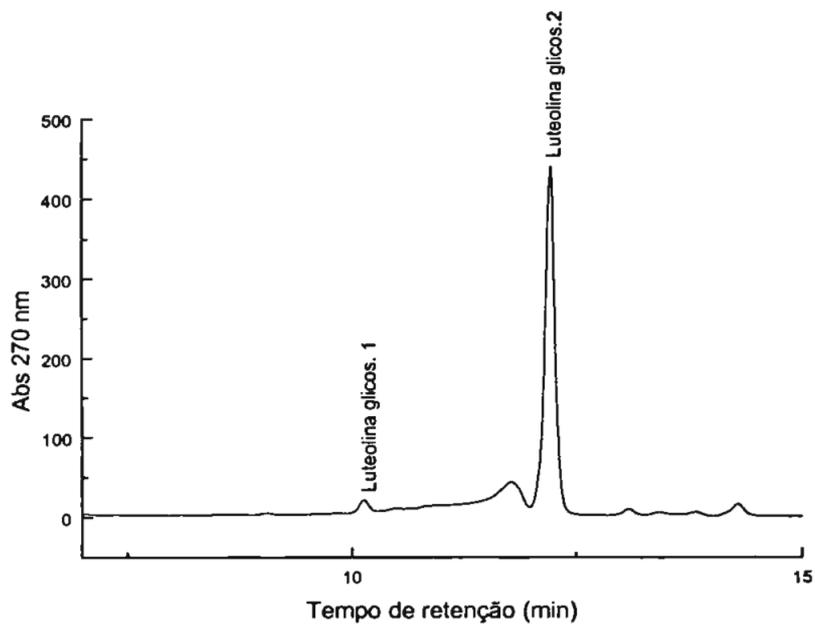


Figura A 7. Cromatograma dos flavonóides extraídos na amostra de pimentão, obtidos por CLAE e monitorados a 270 nm

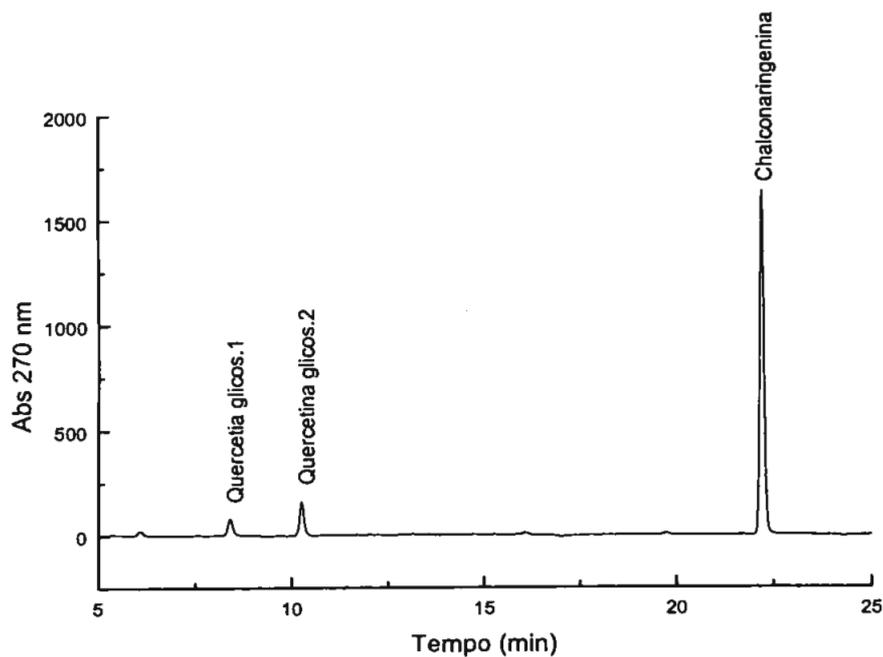


Figura A 8. Cromatograma dos flavonóides extraídos na amostra de tomate, obtidos por CLAE e monitorados a 270 nm

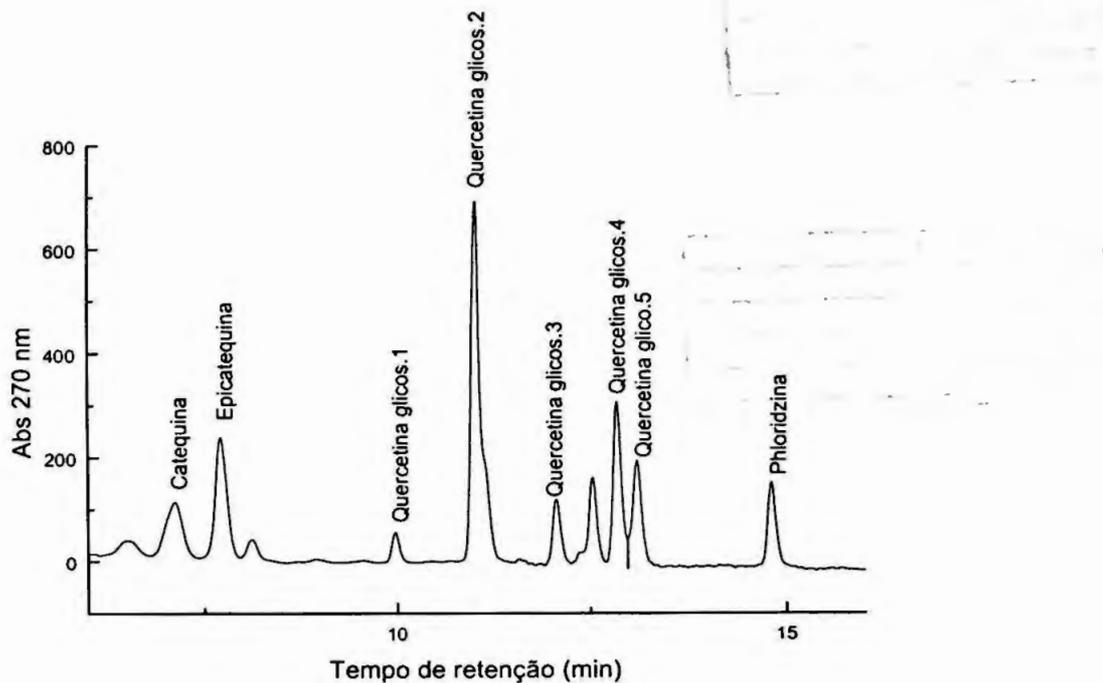


Figura A 9. Cromatograma dos flavonóides extraídos na amostra de maçã gala, obtidos por CLAE e monitorados a 270 nm

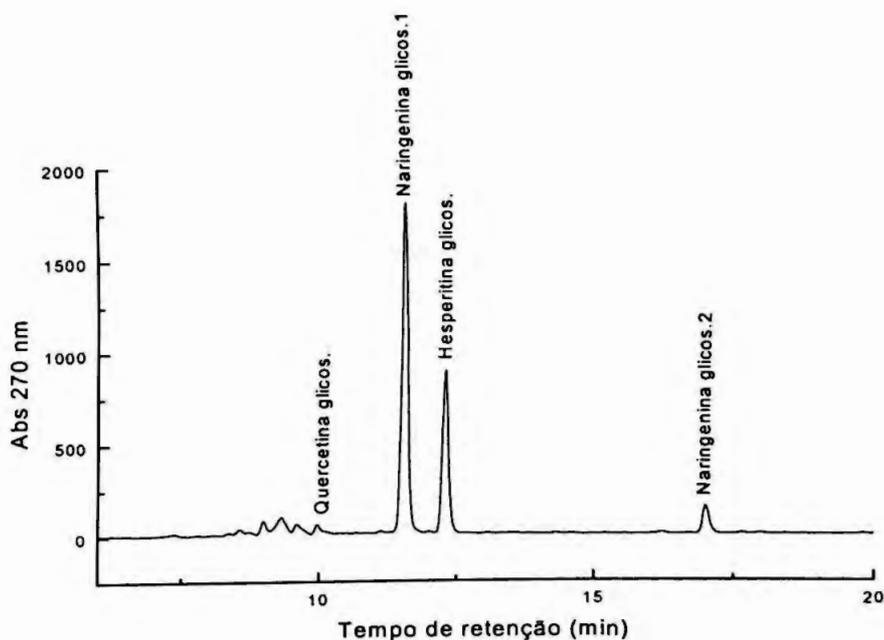


Figura A 10. Cromatograma dos flavonóides extraídos na polpa da laranja, obtidos por CLAE e monitorados a 270 nm