

UNIVERSIDADE TECNOLÓGICA FEDERAL DO PARANÁ
DIRETORIA DE GRADUAÇÃO E EDUCAÇÃO PROFISSIONAL
CURSO DE TECNOLOGIA EM PROCESSOS QUÍMICOS

CLEITON TEXEIRA

**COMPARAÇÃO DO POTENCIAL ANTIOXIDANTE DE ALFACE
EM DIFERENTES MEIOS DE CULTIVO**

TRABALHO DE CONCLUSÃO DE CURSO

Toledo
2015

CLEITON TEXEIRA

**COMPARAÇÃO DO POTENCIAL ANTIOXIDANTE DE ALFACEEM
DIFERENTES MEIOS DE CULTIVO**

Trabalho de Conclusão de Curso de graduação, apresentado à disciplina de TCC II do Curso Superior de Tecnologia em Processos Químicos da Universidade Tecnológica Federal do Paraná – UTFPR, Campus Toledo, como requisito parcial para obtenção do título de Tecnólogo em Processos Químicos.

Orientadora: Profa. Dra. Solange Maria Cottica

TOLEDO

2015

TERMO DE APROVAÇÃO DO TRABALHO DE CONCLUSÃO DE CURSO

CLEITON TEXEIRA

Comparação do potencial antioxidante de Alface em diferentes meios de cultivo

Trabalho apresentado como forma de avaliação para o Trabalho de Conclusão de Curso do curso de Tecnologia em Processos Químicos da UTFPR, Câmpus Toledo, e aprovado pela banca examinadora abaixo*.

Profa. Dra. Solange Maria Cottica
(Orientadora-UTFPR)

Prof. Dr. Ricardo Fiori Zara
(UTFPR)

Profa. Dra. Janesca Alban Roman
(UTFPR)

TOLEDO

2015

*A Folha de Aprovação assinada encontra-se na Coordenação do Curso.

AGRADECIMENTOS

Primeiramente a Deus, por me proporcionar a vida, sabedoria, saúde, muita paciência e persistência.

A todos os meus Familiares, que me incentivaram, torceram e oraram por mim.

A minha Esposa Mariane Guckert, por estar ao meu lado e incentivar.

A minha Filha Alexia, pois sempre que pensei em desistir, ela era a minha força para continuar.

Ao Profa. Dra. Solange Maria Cottica, pela orientação, ensinamentos e atenção.

A Universidade Tecnológica Federal do Paraná – UTFPR, por ter me proporcionado um excelente aprendizado e crescimento profissional, possibilitando assim, minha titulação.

Aos meus Colegas de graduação sempre estiveram comigo nos momentos bons e ruins.

RESUMO

TEXEIRA, Cleiton. **Comparação do potencial antioxidante de alfaces em diferentes meios de cultivo**. 2015. 49f. Trabalho de Conclusão de Curso - Curso Superior de Tecnologia em Processos Químicos, Universidade Tecnológica Federal do Paraná – UTFPR. Toledo. 2015.

Com a mudança no comportamento alimentar da população, a alface, hortaliça mais consumida no Brasil, originária do Mediterrâneo e trazida pelos portugueses, é uma ótima opção de alimentação, possui um baixo valor calórico e é uma fonte de sais minerais e vitaminas. A alface consumida hoje no Brasil é produzida em três meios de cultivo: orgânico, produzido de acordo com a Lei Federal no 10.831, de 23 de Dezembro de 2003, convencional, baseia-se na utilização intensiva de insumos industrializados, mecanização pesada e transgenia, e hidropônica, cultivo de plantas em meio líquido contendo uma solução nutritiva adicionada para promover o desenvolvimento. A conscientização do consumidor acerca de uma alimentação mais saudável pode ser observada no aumento da disponibilidade de hortaliças orgânicas em supermercados. Antioxidantes são benéficos para a saúde, pois possuem a capacidade de reagir com os radicais livres, evitando que estes reajam com o organismo humano. Portanto, antioxidantes são compostos químicos que inibem ou retardam a oxidação, impossibilitando a formação de radicais livres ou interagindo com estes, inativando-os. O objetivo geral desse trabalho foi comparar o potencial antioxidante de alface em diferentes meios de cultivo (orgânico, convencional e hidropônico). Foi analisado o potencial antioxidante pelo método de DPPH (Radical 1,1-difenil-2-picrilhidrazila), onde a alface orgânica teve o melhor desempenho, enquanto as alfaces, convencional e hidropônica tiveram resultados estatisticamente iguais do potencial antioxidante. Avaliou-se também a concentração de compostos fenólicos e teor de flavonóides. Na concentração de compostos fenólicos a alface orgânica também obteve um melhor resultado e as alfaces convencionais e hidropônicas tiveram concentrações estatisticamente iguais. Em relação ao teor de flavonóides, ao contrário do que se esperava, a alface hidropônica teve a maior concentração de flavonóides, e a alface orgânica teve uma maior concentração em relação à convencional. Desta forma, observou-se que no contexto geral a alface orgânica obteve um melhor potencial oxidante que a alface convencional e hidropônica.

Palavras-Chave: Potencial antioxidante. Compostos Fenólicos. Flavonóides. Meios de Cultivo. Alface.

ABSTRACT

TEXEIRA, Cleiton. **Comparison of lettuce antioxidant potential in different cultivation means.** 2015. 49f. Trabalho de Conclusão de Curso - Curso Superior de Tecnologia em Processos Químicos, Universidade Tecnológica Federal do Paraná – UTFPR. Toledo. 2015.

With the change in the eating habits of the population, lettuce, vegetable most consumed in Brazil, originating from the Mediterranean and brought by the Portuguese, is a great power option, it has a low calorific value and is a source of minerals and vitamins. The lettuce consumed in Brazil today is produced in three different culture media: organic, produced in accordance with Federal Law 10,831, of December 23, 2003, conventional, is based on the intensive use of industrial inputs, heavy mechanization and genetic modification, and hydroponics, growing plants in liquid medium containing a nutrient solution added to promote development. Consumer awareness about healthier eating can be seen in the increased availability of organic vegetables in supermarkets. Antioxidants are beneficial to health, because they have the ability to react with free radicals, preventing it from reacting with the human body. Therefore, antioxidants are chemicals that inhibit or retard oxidation, preventing the formation of free radicals or interacting with these, inactivating them. The aim of this study was to compare the lettuce antioxidant potential in different culture media (organic, conventional and hydroponic). It analyzed the antioxidant potential by DPPH (Radical 1,1-difenil-2-picrilhidrazila) method where organic lettuce had the best performance, while lettuce, conventional and hydroponic had statistically similar results of antioxidant potential. It also assessed the concentration of phenolic and flavonoid content. The concentration of phenolic compound organic lettuce also obtained a better result and conventional and hydroponic lettuce had statistically similar concentrations. The flavonoid content, contrary to what was expected, the lettuce had the highest concentration of the flavonoids was hydroponic and organic lettuce had a higher concentration relative to the conventional. Thus, it was observed that in the general context of organic lettuce obtained a better oxidant than conventional hydroponic and lettuce.

Keywords: Antioxidant activity. Phenolic compounds. Flavonoids. Means of cultivation. Lettuce.

LISTA DE SÍMBOLOS, SIGLAS E ABREVIACÕES.

g - Grama

mL - Mililitro

μ L – Microlitro

mg – Miligrama

μ g – Micrograma

μ mol - Micromol

DPPH – Radical 1,1-difenil-2-picrilhidrazila

nm – Nanômetro

UV/VIS – Ultravioleta Visível

UTFPR – Universidade Tecnológica Federal do Paraná

IC₅₀ – Concentração capaz de inibir 50% do DPPH

μ M – Micromolar

P. – Peso

CAD. - Cadinho

EAG – Equivalente de Ácido Gálico

ET – Equivalente Trolox

EQ – Equivalente Quercitina

FLA – Flavonóides

FT – Fenólicos Totais

b.u. – Base Úmida

LISTA DE FIGURAS

FIGURA 1 – Reação genérica entre o radical livre DPPH e um antioxidante.....	21
FIGURA 2 – Estruturas básicas dos (a) taninos, (b) coumarinas e (c) flavonoides	23
FIGURA 3 – Estrutura e numeração básica dos flavonoides	25
FIGURA 4 – Estruturas químicas das principais classes de flavonoides	26
FIGURA 5 – Amostras de alface	29
FIGURA 6 – Curva de inibição do DPPH para a alface hidropônica.....	33
FIGURA 7 – Curva de Calibração do Trolox	34
FIGURA 8 – Curva de Calibração do Ácido Gálico	36
FIGURA 9 – Curva de Calibração da Quercitina	38

LISTA DE TABELAS

TABELA1 – Umidade das amostras.....	32
TABELA 2 – Concentração para inibir 50% de DPPH (IC50).....	33
TABELA 3 – Atividade antioxidante das alfaces em equivalente trolox.....	35
TABELA 4 – Concentração de compostos fenólicos totais nas alfaces (FT)	36
TABELA 5 – Concentração de flavonoides	38
TABELA 6 – Correlação de dados	40

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	11
1.1 OBJETIVOS.....	13
1.1.1 Objetivo Geral.....	13
1.1.2 Objetivos Específicos	13
1.2 JUSTIFICATIVAS	14
2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	15
2.1 ALFACE.....	15
2.2 SISTEMAS DE CULTIVO	16
2.2.1 Cultivo orgânico.....	16
2.2.2 Cultivo Convencional	18
2.2.3 Cultivo hidropônico	19
2.3 ANTIOXIDANTES	19
2.4 COMPOSTOS FENOLICOS.....	22
2.5 FLAVONÓIDES.....	25
3 MATERIAL E MÉTODOS	28
3.1 PREPARO DAS AMOSTRAS	28
3.2 DETERMINAÇÃO DA UMIDADE.....	29
3.3 DETERMINAÇÃO DE ATIVIDADE ANTIOXIDANTE PELO MÉTODO DPPH	29
3.4 DETERMINAÇÃO DE COMPOSTOS FENÓLICOS	30
3.5 DETERMINAÇÃO DE FLAVONÓIDES	31
3.6 ANÁLISE ESTATÍSTICA	31
4 RESULTADOS E DISCUSSÃO	32
4.1 DETERMINAÇÃO DE UMIDADE	32
4.2 QUANTIFICAÇÃO DE POTENCIAL ANTIOXIDANTE PELO MÉTODO DPPH	32
4.5 QUANTIFICAÇÃO DE COMPOSTOS FENÓLICOS	35
4.6 QUANTIFICAÇÃO DE FLAVONÓIDES	37
4.7 CORRELAÇÃO DE DADOS.....	40
5 CONCLUSÃO	41
6 REFERÊNCIAS	42

1 INTRODUÇÃO

Radicais livres e outras espécies reativas oxigenadas são formadas constantemente pelo metabolismo celular do corpo humano (HALLIWELL; GUTTERIDGE, 2007). Também podem ser produzidos em função de fontes externas, tais como, a alimentação, drogas, cigarros e outras fontes de poluição do ambiente (MILLER; BRITIGAN, 1997). O estresse oxidativo vem gerando grande interesse pela comunidade científica, pois é uma das principais causas das patologias com sérias implicações para a saúde pública, como a obesidade, diabetes, aterosclerose, síndrome metabólico, câncer, etc. (BARREIROS et al., 2006).

Neste contexto, várias estratégias têm sido desenvolvidas a fim de neutralizar os efeitos do estresse oxidativo para melhorar a saúde. As terapias convencionais que vêm sendo realizadas nos últimos anos baseiam-se na ingestão de uma dieta rica em vários micros e macronutrientes, estes possuem propriedades antioxidantes que podem beneficiar a saúde. A ingestão de suplementos com compostos bioativos específicos também é uma terapia comumente utilizada (PÉREZ-MATUTE et al., 2012).

Estudos epidemiológicos mostram que o consumo de vegetais e frutas podem proteger o organismo humano contra danos oxidativos através da inibição ou eliminação dos radicais livres e espécies oxigenadas reativas. Muitas plantas, incluindo frutas e hortaliças, são reconhecidas como fontes naturais de antioxidantes que podem proteger contra o estresse oxidativo e, portanto, desempenham papel importante na prevenção de doenças (DRAGLAND et al., 2003).

A alface é uma hortaliça folhosa originária do Mediterrâneo, a qual foi trazida pelos portugueses (GOTO; TIVELLI, 1998). Adaptou-se bem ao clima Brasileiro e é uma das hortaliças mais consumidas no Brasil (MOREIRA; FONTES; CAMARGOS, 2001). Presente na mesa dos brasileiros, com uma boa aceitação, a alface é uma boa fonte de nutrientes para a saúde humana, é uma importante fonte de vitaminas e sais minerais (FAVARO-TRINDADE et al., 2007).

Segundo Hoefkens et al. (2010), houve um aumento na demanda mundial de alimentos cultivados sem pesticidas. Pesquisas mostram que a preocupação com a saúde e a ausência de agrotóxicos, são os principais motivos que leva consumidores a optarem por alimentos orgânicos (CARVALHO; PAGLIUCA, 2007; DAROLT, 2003; MOURA, 2005).

Entretanto, de acordo com Ribeiro (2012), a diferença na qualidade (sabor, textura, cor e nutrientes) de produtos cultivados pelos meios de cultivo orgânico e convencional não é

conclusivo, pois trabalhos realizados por diversos autores mostraram resultados divergentes e condições de cultivo diferentes.

Outra alternativa aos meios de cultivo já estabelecidos é a hidropônica, que garante maiores rendimentos e está associada ao cultivo de plantas em meio líquido e em ambiente protegido. Entretanto, são poucas as pesquisas que relacionam esta forma de cultivo com as quantidades de compostos antioxidantes (COPETTI, 2010).

Desta maneira, torna-se relevante estudar a influência dos diferentes meios de cultivo sobre as propriedades antioxidantes de vegetais, avaliando os fatores que podem influenciar na qualidade dos produtos.

1.1 OBJETIVOS

1.1.1 Objetivo geral

Comparar o potencial antioxidante entre os diferentes meios de cultivo de alfaces (hidropônico, convencional e orgânico).

1.1.2 Objetivos específicos

- Determinar a atividade antioxidante pelo método DPPH dos diferentes meios de cultivo (hidropônico, convencional e orgânico) de alface.
- Determinar teor de compostos fenólicos totais e flavonóides.
- Correlacionar à atividade antioxidante com o teor de fenólicos totais e flavonóides encontrados na alface.

1.2 JUSTIFICATIVA

O consumo de alimentos mais saudáveis vem crescendo em todo mundo. Esse aumento é justificado pelos inúmeros benefícios que eles trazem para a saúde humana, por serem ricos em vitaminas, sais minerais e constituintes químicos (SIMARELLI, 2006).

Pesquisadores, indústrias de alimentos, profissionais da saúde e consumidores estão de acordo que uma boa saúde está relacionada a uma dieta rica em alimentos saudáveis, ricos em fibras, com baixos teores de gorduras e rico em nutrientes que podem diminuir ou até mesmo evitar o risco de doenças crônicas (CÂNDIDO; CAMPOS, 1995; WCRF, 2002). Entre os alimentos saudáveis, os vegetais, como a alface, ganham grande destaque por atenderem todos os requisitos citados acima. Porém, entre os diferentes meios de cultivos conhecidos, hidropônico, convencional e orgânico, de um mesmo vegetal, não há muitos estudos que

relacionem os teores nutritivos entre vegetais produzidos nesses diferentes meios (BOURN; PRESCOTT, 2002).

No trabalho realizado por Mumbach (2014), o potencial antioxidante do tomate orgânico e convencional foi avaliado, sendo encontrada diferença entre eles. Levando em consideração este trabalho, e a relação entre saúde com uma dieta saudável, é fundamental que hajam mais estudos sobre os vegetais produzidos em diferentes cultivos, para ver até que ponto a influência do meio de cultivo pode ter sobre a atividade antioxidante do vegetal.

2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

2.1 ALFACE

A alface (*Lactuca sativa*) é uma hortaliça pertencente à mesma família das chicórias e almeirões, *Asteraceae*. Planta originária da região do Mediterrâneo, já é utilizada há aproximadamente 4.500 a.C., como planta medicinal pelos povos da região. Seu consumo como hortaliça tem registro desde 2.500 a.C., às primeiras espécies no Brasil foram trazidas pelos portugueses. Espécies silvestres ainda podem ser encontradas em regiões de clima temperado, como no sul da Europa e na Ásia Ocidental (GOTO, TIVELLI, 1998).

É uma hortaliça folhosa de boa aceitação na alimentação humana, é também uma importante fonte de vitaminas como A1, B1, B2e C, além de sais minerais, como cálcio e ferro. Uma de suas vantagens na alimentação é o fato de possuir um baixo valor calórico, cerca de 11 a 15 kcal/100 g, variando de cultivar e o sistema de cultivo (FAVARO-TRINDADE et al., 2007).

Por ser uma hortaliça de clima ameno se adaptou bem ao clima brasileiro, com maior produção nas estações de outono e inverno, e é uma das hortaliças folhosa de maior valor comercial no Brasil (MOREIRA; FONTES; CAMARGOS, 2001). Sua reprodução se dá por meio de sementes. No Brasil, seu consumo anual pode ultrapassar as 50 t/ano (MENEZES; SANTOS; SCHMIDT, 2001). A alface mais consumida no Brasil é do tipo crespa, liderando com 70% do mercado, o tipo americano detém 15%, e a lisa 10%, enquanto outras (vermelha, mimosa, etc.) correspondem a 5% do mercado (SALA; COSTA, 2005).

O crescimento no consumo dessa hortaliça não se deve apenas ao aumento da população, mas também a uma mudança de hábitos alimentares da população, que buscam uma alimentação mais saudável, tornando assim inevitável o aumento da produção. O consumidor também está ficando mais exigente com a qualidade do produto consumido, por isso não basta aumentar a produção, mas também se deve ter qualidade e assegurar o seu fornecimento o ano todo.

2.2 SISTEMAS DE CULTIVO

De acordo com Thyboet et al. (2005), sabe-se que a qualidade (percepção sensorial e teor de nutrientes bioativos) das frutas e vegetais pode ser influenciado por diversos fatores-chaves, como a seleção do genótipo e as condições do meio de cultivo (luz, temperatura, geografia, cultivares, resistência à seca, umidade, concentração de CO₂ e a presença de poluentes no ar).

As práticas culturais interferem no crescimento e na composição das plantas, portanto, podem ser utilizadas para manipular o crescimento, rendimento e otimizar a produção de compostos bioativos das plantas (ATKINSON et al., 2006).

De maneira geral, a agricultura convencional e a orgânica são os principais sistemas de cultivo para a produção de alimentos, porém, ambas se diferenciam em relação ao rendimento das culturas, tratamento dos solos, uso ou não de pesticidas e o impacto ambiental que proporcionam (ROSEN; ALLAN, 2007).

Como alternativa aos sistemas de cultivo citados, a hidropônica é uma técnica que vem se aprimorando e conquistando adeptos no Brasil e no exterior em função do aumento da produtividade quando comparado ao cultivo convencional (HIDROGOOD, 2004).

Os itens a seguir descrevem sobre os três sistemas de cultivo citados – Sistema orgânico, convencional e hidropônico – abordando as definições, objetivos, vantagens, fatores limitantes entre os sistemas e a relação entre os diferentes sistemas de cultivo com o teor de compostos fenólicos.

2.2.1 Cultivo orgânico

De acordo com a Lei Federal nº 10.831, de 23 de Dezembro de 2003, sobre as normas referentes à produção, tipificação, processamento, envase, distribuição, identificação e certificação da qualidade dos produtos orgânicos de origem animal ou vegetal, é considerado um sistema orgânico de produção agropecuária quando são adotadas técnicas específicas, mediante a otimização dos recursos naturais e socioeconômicos disponíveis e o respeito à integridade cultural das comunidades rurais (BRASIL, 2003).

Segundo a lei federal citada, os objetivos do cultivo orgânico são a sustentabilidade econômica e ecológica, maximização dos benefícios sociais, minimização da dependência de energia não-renovável.

Sempre que possível, devem ser adotados métodos culturais, biológicos e mecânicos, em contraposição ao uso de materiais sintéticos, a eliminação do uso de organismos geneticamente modificados e radiações ionizantes em qualquer fase do processo de produção, seja no processamento e armazenamento, distribuição e comercialização, e a proteção do meio ambiente (BRASIL, 2003).

Segundo Rembiakowska (2007), quando comparados aos alimentos cultivados pelo sistema convencional, os alimentos provenientes do cultivo orgânico contêm menos nitratos e nitritos, porém, maiores teores em vitamina C, matéria seca, aminoácidos essenciais, açúcares totais, compostos fenólicos, e geralmente apresentam mais compostos minerais e melhores qualidades sensorial, tendo como desvantagem seu rendimento que é 20% inferior frente ao cultivo convencional.

Em relação aos rendimentos, uma das principais justificativas é o uso de fertilizantes orgânicos no cultivo, em que, segundo Winter e Davis (2006), não é tão eficaz quanto os fertilizantes minerais e, desta maneira, as plantas buscam outros recursos para a síntese de seus mecanismos de defesa.

De maneira geral, estudos mostram que frutas e vegetais orgânicos possuem menor teor de proteínas e carotenoides quando comparados aos produzidos convencionalmente (BRANDT, 2008), porém, na maioria dos casos, plantas orgânicas possuem maiores concentrações de ácido ascórbico e de compostos fenólicos (BRANDT; MOLGAARD, 2001).

Segundo Copetti (2010), alguns estudos observaram que não há diferenças significativas nos teores de compostos fenólicos totais entre os sistemas de cultivo. Estes resultados podem estar relacionados a muitos fatores distintos: a variabilidade das amostras de alimento *in natura*, as diferentes espécies e cultivares, o tipo e a população microbiana do solo, os métodos empregados para a aplicação de fertilizantes, o clima (luz, temperatura, chuva e umidade), as práticas durante o cultivo e após a colheita (COPETTI, 2010).

2.2.2 Cultivo convencional

Segundo Campos (2014), no início dos anos 70, com a consolidação da agricultura moderna, a Revolução Verde intensificou a relação da agricultura com a engenharia genética, produzindo variedades melhoradas geneticamente e adaptadas às condições totalmente diferentes do seu ambiente natural, provocando rentabilidade econômica nunca antes visto para quase todos os países.

O sistema de cultivo convencional baseia-se na utilização intensiva de insumos químicos, mecanização pesada e transgenia. Em função do amplo desenvolvimento científico e tecnológico envolvido no cultivo convencional, busca-se sempre a alta produtividade (CAMPOS, 2014), entretanto, a aplicação sistemática de adubos químicos e agrotóxicos para o controle das pragas e doenças faz com que o custo de produção se eleve (LEITE, 1999).

De modo geral, alguns aspectos negativos estão associados a esta forma de cultivo, tais como esgotamento dos recursos naturais, degradação ambiental, exclusão social, elevação dos custos de produção, contaminação dos alimentos por agrotóxicos e redução da sua qualidade. Os efeitos do uso intensivo de agrotóxicos não se restringe apenas aqueles que os manuseiam diretamente na lavoura, mas afeta o meio ambiente (solo e a água) e o consumidor final, que pode estar sujeito às intoxicações que podem levar ao óbito (CAMPOS, 2014).

De acordo com Campos (2014), a agricultura orgânica atualmente configura-se como uma alternativa para a produção de alimentos livres de agrotóxicos, reconsiderando os problemas causados pelo cultivo convencional.

Darolt (2003) e Borguini (2006) afirmam que os alimentos orgânicos, quando comparados aos alimentos produzidos de maneira convencional, são superiores nutricionalmente. Vários autores que avaliaram os alimentos produzidos por meio dos sistemas orgânicos e convencional se depararam com a dificuldade em estabelecer o método científico adequado para controlar as diversas variáveis (citados no item 2.1.1) que podem influenciar nos valores nutritivos dos alimentos (RIBEIRO, 2012).

2.2.3 Cultivo hidropônico

A hidroponia trata-se de uma técnica de cultivo de plantas em meio líquido contendo uma solução nutritiva adicionada para promover o desenvolvimento da cultura, podendo estar associada ou não a substratos não-orgânicos naturais (CASTELLANE; ARAÚJO, 1994).

Segundo Martínez (2002), a produção de hortaliças baseado na hidroponia vem ganhando destaque ao apresentar vantagens como maior rendimento por área, melhor programação da produção, ciclo mais curto em decorrência de maior controle ambiental, menor incidência de pragas e doenças. Além disso, maior facilidade de execução dos tratos culturais, eliminação de perdas de nutrientes por lixiviação, volatilização, fixação e retrogradação, resultando, inclusive, no uso mais racional dos fertilizantes.

Um dos pontos mais importantes deste sistema trata-se das formulações das soluções nutritivas, portanto, uma formulação que garanta o desenvolvimento máximo é muito difícil, em função da variação das exigências nutricionais de cada planta (MARTÍNEZ, 2002).

Copetti (2010) afirma que são poucos os estudos comparando o sistema de cultivo hidropônico aos demais em termos de compostos fenólicos e os estudos que existem são pouco conclusivos, portanto, necessitando de um delineamento mais eficaz para a obtenção de resultados precisos e seguros.

2.3 ANTIOXIDANTES

Os antioxidantes podem ser definidos como moléculas capazes de prevenir ou retardar a oxidação (perda de um ou mais elétrons) de outras moléculas, geralmente substratos biológicos como lipídeos, proteínas ou ácidos nucleicos. A oxidação destes substratos pode acontecer através de duas espécies reativas: os radicais livres e aqueles, sem radicais livres, cuja a reatividade é suficiente para induzir o processo oxidativo sobre o substrato (PEÉREZ, AGUILAR, 2013).

Segundo Pérez e Aguilar (2013), há três tipos de antioxidantes:

1. Primário: Previne a formação de novos radicais livres, convertendo-os em moléculas menos danosas antes que possam reagir ou prevenir a formação de radicais livres

de outras moléculas, por exemplo, proteínas que se ligam a metais (ferritina, transferrina e ceruloplasmina) limitam a disponibilidade de ferro necessário para formar o radical OH.

2. Secundário: Capturam radicais livres, prevenindo reações em cadeia (vitamina E ou α -tocoferol, vitamina C ou ácido ascórbico, β -caroteno, ácido úrico, bilirrubina, albumina, ubiquinol-10, metionina).

3. Terciário: Repararam os danos das biomoléculas causados por radicais livres.

Os antioxidantes são classificados de acordo com as suas características bioquímicas, suas funções e o local onde desenvolvem suas atividades. Desta maneira, os antioxidantes são classificados em dois grandes grupos, em função de sua solubilidade em água (hidrofílicos) ou lipídios (hidrofóbicos). Antioxidantes solúveis em água reagem com os oxidantes presentes no citoplasma da célula e no plasma do sangue, enquanto os lipossolúveis protegem as membranas das células contra a peroxidação lipídica (PEÑEZ; AGUILAR, 2013).

Segundo Devasagaya; Tilak e Bloor (2004), os organismos possuem uma complexa rede de metabólitos antioxidantes e enzimas que trabalham juntas para prevenir o dano oxidativo sobre os componentes das células, como o DNA, proteínas e lipídeos.

Geralmente, os antioxidantes previnem que estas espécies reativas sejam formadas ou removidas antes que possam causar danos sobre componentes vitais das células. Danos celulares causados por oxidantes são resultados das reações químicas em cadeia devido a processos como peroxidação de lipídeos, oxidação do DNA ou danos sobre as proteínas, que podem causar mutações e possivelmente câncer se não revertido por meio de mecanismos de reparo do DNA, enquanto os danos sobre as proteínas causarão a inibição das enzimas, desnaturação e, conseqüentemente, a degradação das proteínas (DEVASAGAYA; TILAK; BOLOOR, 2004).

De acordo com Rahman et al. (2008), os sistemas de defesa dos organismos são dotados de antioxidantes endógenos (catalase, superóxido dismutase, glutathioninaperoxidase/redutase) e exógenos (vitamina C, E, β -caroteno) contra as reações dos radicais livres. Entretanto, a geração de radicais, além da capacidade antioxidante, leva ao estresse oxidativo, implicando em diversas condições patológicas, tais como a peroxidação de lipídeos, oxidação de proteínas, danos no DNA e degeneração celular relacionado às doenças cardiovasculares, diabetes, doenças inflamatórias, câncer e o Mal de Parkinson (BARREIROS et al, 2006). Antioxidantes sintéticos como butilato de hidroxianisola (BHA), terc-butil-hidroxiquinona (TBHQ) e hidroxitoluenobutilado (BHT) vêm preocupando vários pesquisadores devido à possibilidade destes antioxidantes promoverem a carcinogênese (RAMALHO; JORGE, 2006).

Em função destes resultados, atenção tem sido dada quanto ao uso de antioxidantes, especialmente antioxidantes naturais para inibir e proteger dos danos causados pelos radicais livres e espécies oxigenadas reativas (RAHMAN et al., 2008).

Os antioxidantes provenientes de plantas são alternativas preferidas, em detrimento aos sintéticos, devido à segurança destes. Estudos epidemiológicos mostram que o consumo de vegetais e frutas podem proteger o organismo humano contra danos oxidativos através da inibição ou eliminação dos radicais livres e espécies oxigenadas reativas (HAMZAH et al., 2013).

Muitas plantas, incluindo frutas e vegetais, são reconhecidas como fontes naturais de antioxidantes que podem proteger contra o estresse oxidativo e, portanto, desempenham papel importante na quimioprevenção das doenças que possuem a etiologia e patofisiologia em espécies reativas (DRAGLAND et al., 2003).

Ao lado das vitaminas antioxidantes, há os compostos fenólicos, metabólitos secundários das plantas que podem ser subdivididos em muitos grupos de acordo com suas estruturas moleculares. Embora tradicionalmente sejam considerados antioxidantes, os compostos fenólicos também apresentam propriedades antimicrobianas, antivirais e anti-inflamatórias (IGNAT; VOLF; POPA, 2011) e vêm recebendo merecida atenção devido aos efeitos benéficos para a saúde.

Uns dos métodos utilizados para determinação da atividade antioxidante é o DPPH, onde o radical DPPH (2,2-difenil-1-picril-hidrazila) reage com o antioxidante, convertendo-se à sua forma reduzida.

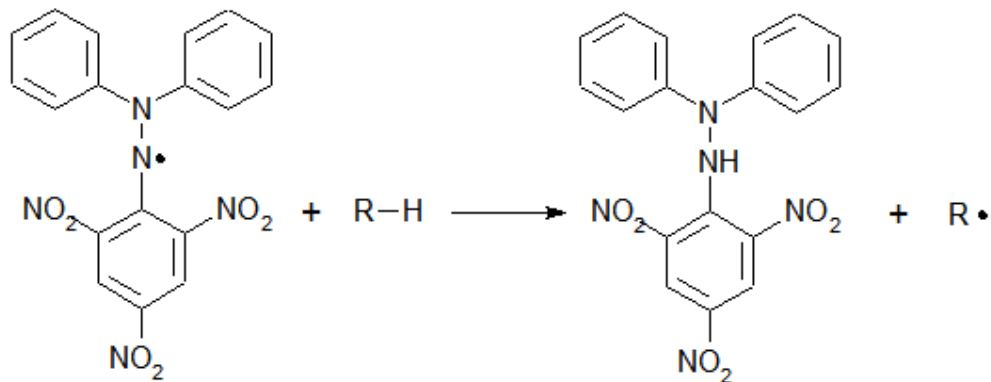


Figura 1 - Reação genérica entre o radical livre DPPH e um antioxidante

Fonte: Adaptado de KUMAR *et al.*, (2011).

Com a redução, a solução DPPH, que é inicialmente violeta, torna-se amarela proporcionalmente à capacidade do antioxidante em seqüestrar o radical livre, tornando-se assim possível o monitoramento através de espectrofotômetro (POVH, 2008).

A quantidade de antioxidante capaz de seqüestrar metade dos radicais livres DPPH presentes na solução, denomina-se IC_{50} . Um valor baixo de IC_{50} indica que será necessária uma pequena quantidade de extrato para reduzir 50% do radical livre DPPH e conseqüentemente maior será seu potencial antioxidante.

2.4 COMPOSTOS FENÓLICOS

De maneira geral, o metabolismo das plantas é dividido em primário e secundário. As substâncias comuns aos seres vivos e essenciais para a manutenção das células (lipídios, proteínas, carboidratos e ácidos nucleicos) são provenientes do metabolismo primário. Substâncias formadas por outros caminhos biossintéticos e restritos a determinados grupos dos organismos são resultados do metabolismo secundário (VICKERY; VICKERY, 1981), sendo os compostos fenólicos, um dos maiores e mais distribuídos grupos dos metabólitos secundários das plantas (SCALBERT; WILLIAMSON, 2000).

Os compostos fenólicos podem ser classificados de diversas maneiras, pois são constituídos em um grande número de estruturas heterogêneas que variam de uma simples molécula até compostos altamente polimerizados (GIADA, 2013). De acordo com Bravo (1998), uma das classificações leva em conta a distribuição destas substâncias na natureza, sendo divididos em três classes: pouco distribuído (fenóis simples, hidroquinona, resorcinol, aldeídos derivados de ácidos benzóicos que são componentes de óleos essenciais), amplamente distribuídos (divididos em flavonóides e seus derivados, coumarinas e ácidos fenólicos, como ácidos benzóicos e cinâmicos e seus derivados) e os polímeros (tanino e lignina).

Podem ainda ser classificados de acordo com o local onde se encontram em uma planta (livre na fração solúvel da célula ou ligado aos componentes da parede celular), junto com a estrutura química destas substâncias. Do ponto de vista nutricional, podem ser classificados em: solúvel (fenóis simples, flavonóides e taninos de baixo e médio peso molecular não ligados aos componentes das membranas) e insolúvel (taninos condensados, ácidos fenólicos entre outros componentes fenólicos de baixo peso molecular, ligados aos

polissacarídeos da parede celular ou em proteínas que formam complexos estáveis insolúveis) (SANCHÉZ-MORENO, 2002)

Estes compostos possuem uma característica em comum, a presença de pelo menos um anel aromático com a hidroxila substituída (MORTON et al., 2000). Outra característica em comum destas substâncias é a de que geralmente estão ligadas à outras moléculas, freqüentemente à açúcares e proteínas. A existência de compostos fenólicos na forma livre também ocorre em tecidos de plantas, embora menos comum, pois apresentam toxicidade quando estão no estado livre.

A atividade antioxidante dos compostos fenólicos depende da estrutura química destas substâncias (SCALBERT; WILLIAMSON, 2000). De acordo com Amorim et al. (2012), compostos fenólicos, que possuem um ou mais grupos hidroxilas ligados ao anel aromático, se sobressaem de outras classes de metabólitos secundários de plantas, pois encontram-se amplamente distribuídos, possuem várias funções ecológicas, com atividades farmacológicas cientificamente comprovadas, e são representados pelos taninos, coumarinas e flavonóides (Figura 2).

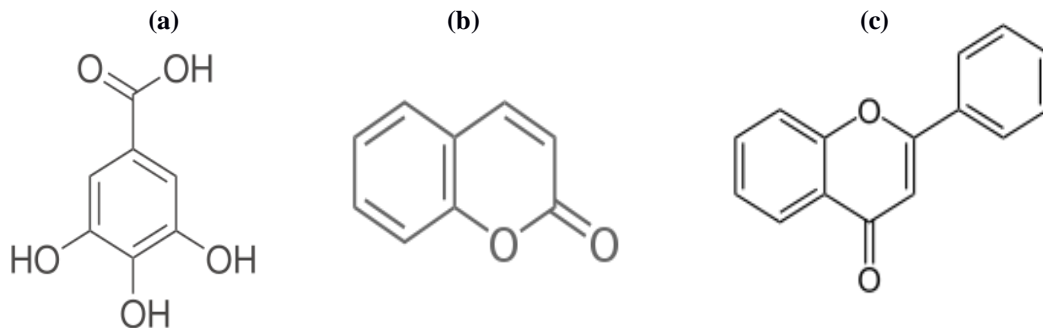


Figura 2. Estruturas básicas dos (a) taninos, (b) coumarinas e (c) flavonóides.

Fonte: Ornelas (2014)

Os compostos fenólicos desempenham um importante papel de proteção contra os insetos e outros animais para as plantas (MORTON et al., 2000). Portanto, são essenciais para o metabolismo fisiológico e celular, onde estão envolvidos em muitas funções nas plantas, como as propriedades sensoriais (cor, aroma, sabor e adstringência), estrutura, polinização, resistência às pestes e predadores, processos germinativos da semente após a colheita e crescimento, assim como o desenvolvimento e reprodução, entre outros (TOMÁS-BARBERÁN; ESPÍN, 2001).

Os métodos de análise empregados para a quantificação dos compostos fenólicos podem ser divididos em análises espectrofotométricas e análises cromatográficas. A primeira se baseia em diversos princípios e pode ser utilizada para a quantificação de diversos grupos estruturais, onde o reagente Folin-Denis, bastante utilizado na determinação de fenólicos totais em vegetais, foi um dos primeiros a ser utilizado para esta finalidade (SINGLETON; ROSSI, 1965).

O reagente Folin-Denis foi modificado ao longo do tempo, resultando no reagente Folin-Ciocalteu, uma das técnicas mais utilizadas para a quantificação dos compostos fenólicos (SOUSA et al., 2007).

Segundo Cruz (2008), o princípio do método que utiliza o reagente Folin-Ciocalteu baseia-se na redução dos ácidos presentes no reagente – ácido fosfotúngstico ($H_3PW_{12}O_{40}$) e fosfomolibdico ($H_3PMo_{12}O_{40}$) – quando na presença de compostos fenólicos, gerando óxido de tungstênio (W_8O_{23}) e óxido de molibdênio (Mo_8O_{23}), que apresentam coloração azulada.

É possível realizar a leitura da absorbância da solução na região do visível (760 nm) e utilizando uma curva de concentração de ácido gálico, é possível correlacionar a intensidade da cor à concentração de fenóis presentes na amostra, expresso em equivalente de ácido gálico (GAE) (CRUZ, 2008).

Segundo Matysik e Wójciak-Kosior (2005), várias técnicas podem ser empregadas para o controle da qualidade dos compostos fenólicos de uma planta, tais como a cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE), cromatografia gasosa (CG) e espectrometria de massas.

A cromatografia líquida de alta eficiência é a técnica mais utilizada para a identificação e quantificação de compostos fenólicos, em que também é possível avaliar as interações entre os fenólicos com outros componentes da matriz. A espectrometria de massas acoplada ao CLAE permite identificar e quantificar com segurança a grande variedade de compostos fenólicos possíveis na natureza (SHADHIDI; NACZK, 2004).

Segundo Giada (2013), os compostos fenólicos naturais têm recebido grande interesse, uma vez que grandes quantidades destes podem ser encontradas em plantas. O consumo de vegetais e bebidas, com elevadas concentrações de compostos fenólicos, pode reduzir o risco de desenvolver várias doenças, devido ao poder antioxidante destes alimentos, e entre outros fatores.

Em alguns casos, estes compostos podem ser utilizados com propósitos terapêuticos devido as suas propriedades farmacológicas (PERCIVAL, 1998), por exemplo, muitos

compostos fenólicos de baixo peso molecular, como o timol, são utilizados na medicina como antisséptico devido a sua toxicidade (GIADA, 2013).

2.5 FLAVONÓIDES

Flavonóides são compostos fenólicos que compreendem um grupo de substâncias naturais com grande diversidade estrutural e não são produzidos pelo corpo humano, no entanto podem ser encontrados em várias partes de uma planta, como nas folhas, frutas, cascas, raízes, caules e flores (NIJVELDT et al., 2001).

Segundo Simões et al. (1999), os flavonóides apresentam 15 átomos de carbono em seu núcleo fundamental, constituído de duas fenilas ligadas por uma cadeia de três carbonos entre elas (Figura 3).

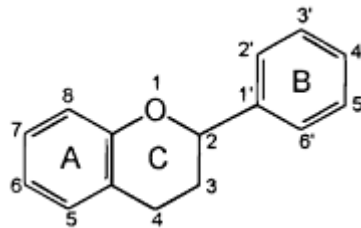


Figura 3. Estrutura e numeração básica do flavonóide

Fonte: Bravo (1998)

A estrutura do flavonóide é composta por um esqueleto simples contendo dois anéis aromáticos (A e B) ligados à cadeia propiônica, onde um anel é derivado de um acetato, e os outros dois anéis provenientes da via chiquimato, que pode estar associado com carboidratos (heterosídeos), desassociado (agliconas) ou polimerizado (antocianinas) (SIMÕES et al., 1999).

De acordo com Sánchez-Moreno (2002), sabe-se que os flavonoides estão entre os antioxidantes mais potentes das plantas. A excelente atividade antioxidante destas substâncias está relacionada a presença dos grupos hidroxilas nas posições 3' e 4' do anel B, que conferem elevada estabilidade ao radical formado participando no desemparelhamento dos elétrons, e uma dupla ligação entre os carbonos C2 e C3 do anel C junto com o grupo carbonila da posição C4, o que torna possível o desemparelhamento de um elétron do anel B.

Os grupos livres de hidroxila na posição 3 do anel C e na posição 5 do anel A, juntos com o grupo carbonila na posição 4, também são importantes para a atividade antioxidante destes compostos (SÁNCHEZ-MORENO, 2002). Porém, a eficácia dos flavonóides diminui com a substituição da hidroxila por açúcares, sendo os glicosídeos menos antioxidantes que os seus correspondentes agliconas (RICE-EVANS; MILLER; PAGANGA, 1996).

Os flavonóides mais importantes são representados pelos flavonóis, flavanóis, flavonas, isoflavonas, antocianidinas ou antocianinas e flavanonas (GIADA, 2013) (Figura 4).

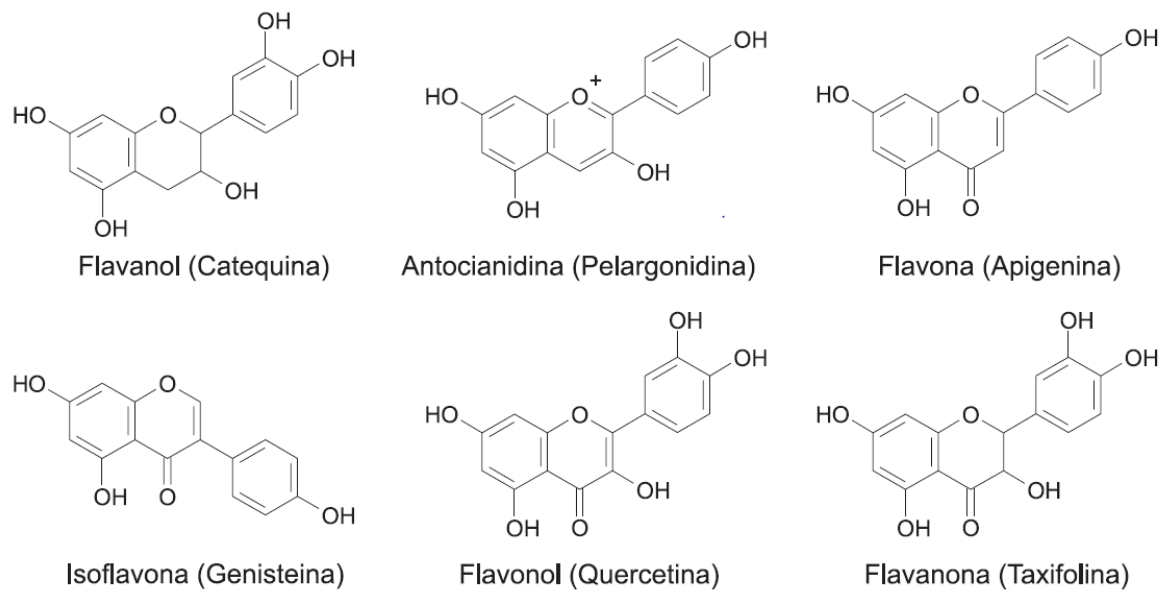


Figura 4. Estruturas químicas das principais classes de flavonóides.

Fonte: Cerqueira; Medeiros; Augusto (2007).

Dentro destas classes, há várias estruturas que variam de acordo com o grau de hidrogenação e hidroxilação dos três anéis destes compostos. Flavonóides também podem ser formados como derivados sulfatados e metilados, conjugados com mono e dissacarídeos e formando complexos com oligossacarídeos, lipídeos, aminas, ácidos carboxílicos e orgânicos, onde são conhecidos aproximadamente 8000 compostos (DUTHIE; GARDNER; KYLE, 2003)

Esta classe de metabólitos possui importantes propriedades farmacológicas, como atividades antioxidante, anti-inflamatória, anti-trombogênica, antimicrobiana, anticâncer, antidiabético, e hipocolesterolêmico (NIJVELDT et al., 2001).

Sabe-se que cerca de 4500 flavonóides desempenham as mais diversas funções biológicas no organismo humano (PEDRIALI et al., 2005). Os flavonóides possuem a

capacidade de inibir a formação de radicais livres e combater o envelhecimento precoce, pois inibem a xantina oxidase, enzima responsável pela oxidação dos tecidos. Em função destas características, os flavonóides podem prevenir processos de estresse oxidativo, que causam a morte celular como a degeneração de neurônios e membranas celulares (Mal de Parkinson e Alzheimer) e de câncer, em função dos danos causados às moléculas de DNA pelos radicais livres (DÔRES, 2007).

Os isoflavonoides, nas plantas, comportam-se como fitoalexinas, que são substâncias produzidas pela em resposta a infecção por algum patógeno. As propriedades biológicas em destaque são a atividade estrogênica, antifúngica e antibacteriana e as propriedades inseticidas (SIMÕES et al., 1999).

Segundo Sobrinho et al., (2008), o princípio do método para a quantificação dos flavonóides baseia-se na reação entre o íon alumínio (Al^{3+}) com os flavonoides da amostra, resultando na formação de um complexo flavonoide- Al^{3+} estável de coloração amarela e de intensidade proporcional à concentração do flavonoide. Esta reação gera um deslocamento batocrômico e intensificação na absorção, que pode ser medida sem a influência de outros componentes fenólicos na amostra.

3 MATERIAL E METODOS

3.1 PREPARO DAS AMOSTRAS

As amostras de alface orgânicas e convencionais foram coletadas em hortas no dia 10 de abril de 2015, na cidade de Guaíra, Paraná. A horta orgânica localizada nas coordenadas geográficas 24°06'11.6"S 54°17'10.4"W (Fonte Google Maps) e a horta convencional nas coordenadas geográficas 24°07'11.3"S 54°15'57.7"W (Fonte Google Maps), tendo entre elas um raio de distância de aproximadamente três quilômetros, passando assim as mesmas situações climáticas, exposição ao sol e incidência de chuva, e cultivada no mesmo tipo de solo. A coleta foi realizada de forma aleatória nas hortas, no total foram coletados 10 pés de cada tipo de tratamento. A alface hidropônica foi adquirida no mercado local, originária de um produtor rural da cidade Mundo Novo, Mato Grosso do Sul, respeitando o mesmo fornecedor para que todas as amostras tenham passado pelas mesmas etapas de cultivo e tomou-se o cuidado para coletar amostras com o mesmo tamanho, visando estarem no mesmo estágio de maturação.

As amostras (Figura 5) foram picotadas e colocadas para secar em estufa com circulação de ar a 60° C por um período de 24 horas. Após, foram trituradas em almofariz de porcelana e padronizadas em peneira de 50 mesh e armazenadas em congelador (BOSCH) a -18°C até o preparo de extrato.

Para a obtenção dos extratos para as análises, as amostras foram submetidas à extração a frio em temperatura ambiente, utilizando como solvente Metanol P.A., conforme metodologia descrita por Irakliet *al.*, (2011). Pesaram-se 5 g da amostra e adicionaram-se 50 mL de solvente. Após a adição do solvente, a amostra e o solvente ficaram em contato por 30 minutos sob agitação ultrassônica e em temperatura ambiente. A solução foi filtrada em filtro quantitativo e seu volume foi ajustado para 50 mL com metanol.



Alface Orgânica

Alface Hidropônica

Alface Convencional

Figura 5: Amostras de alface

3.2 DETERMINAÇÃO DA UMIDADE

A determinação da umidade foi realizada em triplicata pelo método de aquecimento direto. Este método baseia-se na quantificação do peso, devido à perda de água por evaporação, que é determinado por dessecação direta em estufa a 105°C. Uma amostra de alface seca de aproximadamente 5 g, pesada em um cadinho previamente tarado, foi levada a uma estufa a 105° C por 5 horas e resfriada em dessecador. A operação foi repetida até se obter um peso constante da amostra (CECCHI, 2003). O cálculo da porcentagem de umidade foi realizado conforme a equação 01:

$$\% \text{ umidade} = \frac{(P.CAD. + \text{Amostra}(g) - P. CAD + \text{Amostra Seca}(g)) \times 100}{P. Amostra \text{ Total (g)}} \quad (01)$$

Onde: P.= Peso; P.CAD. = Peso do Cadinho.

3.3 DETERMINAÇÃO DE ATIVIDADE ANTIOXIDANTE PELO MÉTODO DPPH.

Para a determinação da atividade antioxidante utilizou-se o método DPPH conforme descrito em Bondet, Brand-Wilians e Berset (1997), com algumas adaptações. Utilizaram-se diferentes volumes dos extratos: 2,5, 5, 10, 20, 30, 50, 70, 90, 120 µL, aos quais foram adicionados 2,0 mL de solução metanólica do reagente DPPH (2,2-difenil-1-picril-hidrazila

(Aldrich)) com uma concentração de $3 \times 10^{-5} \text{ g.mL}^{-1}$, sendo mantidas sobre abrigo da luz e temperatura ambiente por 30 minutos. Efetuou-se a leitura em espectrofotômetro GENESYS 10S em um comprimento de onda de 517 nm, utilizando metanol como branco. As análises foram feitas em triplicata. O cálculo da porcentagem de inibição de radicais livres foi realizado conforme a equação 02:

$$\% \text{ de inibição} = [(A_0 - A_1) / A_0] \times 100 \quad (02)$$

Onde: A_0 é a absorbância da solução de DPPH e A_1 é a absorbância da amostra após 30 min com a solução de DPPH.

Através de um gráfico de porcentagem de inibição pela concentração das amostras foi calculado o valor de IC_{50} (concentração necessária para inibir 50 % do radical DPPH).

Em seguida foi obtida uma curva de calibração utilizando Trolox como padrão e metanol como branco, as leituras foram efetuadas em espectrofotômetro a 517 nm. Os padrões receberam mesmo tratamento utilizado para as amostras.

3.4 DETERMINAÇÃO DE COMPOSTOS FENÓLICOS

A quantificação dos compostos fenólicos foi realizada utilizando o reagente Folin-Ciocalteu (SINGLETON; ROSSI, 1965 apud LUZIA; JORGE, 2010)¹.

Uma alíquota de 0,3 mL do extrato da amostra foi acrescida de 2,5 mL de solução aquosa do reagente Folin-Ciocalteu P.A. (Dinâmica) a 10% (v/v). Após 2 minutos, 2,0 mL de Carbonato de Sódio P.A. (Proquímios) a 7,5 % (m/v) foram adicionados, então a mistura foi agitada e incubada por 5 minutos em banho-maria a 50°C. Posteriormente, a absorbância foi medida em espectrofotômetro a 760 nm. O branco foi obtido substituindo-se o volume do extrato por metanol. O equipamento utilizado foi um espectrofotômetro com varredura (GENESYS 10S).

¹ SINGLETON, V. L.; ROSSI, J. A. **Colorimetry of total phenolics with phosphomolybdic-phosphotungstic acid reagents**. American Journal of Enology and Viticulture, Vol 16, No 3, p. 144-158, 1965.

A quantidade total de fenóis das amostras foi determinada através de uma curva de calibração preparada com solução metanólica de Ácido Gálicomonohidratado puríssimo (Vetec) nas concentrações de 5, 10, 20, 40, 60, 80 e 100 $\mu\text{g mL}^{-1}$. Os resultados foram expressos como $\mu\text{g EAG.}$)

3.5 DETERMINAÇÃO DE FLAVONOIDES

O teor de flavonóides foi determinado pelo método descrito por Woisky e Salatino (1998) com algumas modificações, utilizando Cloreto de Alumínio P.A. (AlCl_3). Soluções metanólicas de extratos foram preparadas e 500 μL destas soluções foram adicionados em tubos de ensaio. Em cada tubo, adicionou-se 250 μL de AlCl_3 5% (m/v em metanol) e 4,25 mL de metanol. Após 30 minutos, a absorvância foi medida a 410 nm em espectrofotômetro (GENESYS 10S) à temperatura ambiente. O teor de flavonóides foi determinado através de curva de calibração com quercetina, e expresso como mg de equivalente quercetina (EQ) g^{-1} de extrato.

3.6 ANÁLISE ESTATÍSTICA

Os resultados obtidos das determinações analíticas, em triplicata, foram submetidos à análise de variância e as diferenças entre as médias testadas pelo teste Tukey com 5% de significância, utilizando o *software* R-Agricolae 3.2.0 (2015).

4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

4.1 DETERMINAÇÃO DE UMIDADE

A determinação da umidade das amostras é utilizada para verificar a quantidade de água presente no produto. Os resultados das análises de umidade das amostras após a secagem de alface orgânica, convencional e hidropônica em estufa estão apresentados na Tabela 1.

Tabela 1: Umidade das amostras de alface.

Cultura	Umidade (%)
Orgânica	7,2
Convencional	7,1
Hidropônico	5,1

Pode-se observar um menor índice de umidade para a alface cultivada no sistema hidropônico que nos sistemas de cultivo orgânico e convencional.

Favaro-Trindade (2007) em seu estudo o valores de umidades encontradas para a alface *in natura* cultivadas nos sistema orgânico, convencional e no sistema hidropônico, foram de 95,38%, 94,68% e 94,42%, respectivamente, os teores de umidade no convencional e hidropônico não diferiu estatisticamente.

4.2 QUANTIFICAÇÃO DO POTENCIAL ANTIOXIDANTE PELO MÉTODO DPPH

No presente estudo, determinou-se o potencial antioxidante da alface cultivado em diferentes meios de cultivo, orgânico, hidropônico e convencional, utilizando o método DPPH.

Para obter a equação da reta, a fim de calcular o IC₅₀ (Figura 06), foram utilizados diferentes volumes de extrato, com base em estudos preliminares, e plotados contra a

absorbância obtida, conforme exemplo do gráfico obtido com a amostra de alface hidropônico na Figura 5.

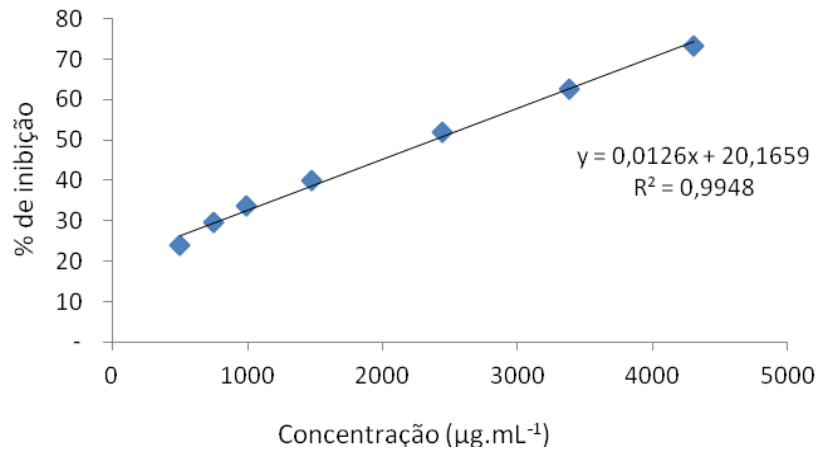


Figura 6: Curva de inibição do DPPH para a alface hidropônica.

A concentração para Inibir 50% de DPPH (IC₅₀), utilizada para cada extrato na determinação do potencial antioxidante, estão apresentados na Tabela 02.

Tabela 02: Concentração para Inibir 50% de DPPH (IC₅₀).

Cultura	IC ₅₀ (µg.mL ⁻¹)**
Orgânico	972,95±14,35 b
Convencional	2309,30±33,85 a
Hidropônico	2351,30±23,22 a

*Letras diferentes na mesma coluna indicam valores estatisticamente diferentes (P<0,05).

**Resultados expressos em base seca.

A menor concentração com o maior percentual de inibição foi na amostra de alface orgânica (972,95 µg.mL⁻¹), já as amostra de alface hidropônica e convencional apresentaram resultados iguais estatisticamente. Em seus estudos ARBOS (2010) também constatou um melhor desempenho na atividade antioxidante para o alface orgânico (0,64 mg.mL⁻¹) e o

convencional ($0,77 \text{ mg.mL}^{-1}$). ARBOS (2004) analisou a influência de diferentes técnicas de cultivo sobre o potencial antioxidante de crucíferas onde constatou na couve-manteiga, um potencial antioxidante significativamente decrescente na amostra, orgânicas ($5,49 \text{ } \mu\text{g.mL}^{-1}$), hidropônico ($4,51 \text{ } \mu\text{g.mL}^{-1}$) e convencional ($3,87 \text{ } \mu\text{g.mL}^{-1}$). Melo, et al (2006) em seus estudos da capacidade antioxidante de hortaliças usualmente consumidas no Brasil, pôde constatar uma capacidade moderada de seqüestrar o radical, extratos metanólicos de hortaliças, contendo $0,03$ a $0,4 \text{ g}$ de amostra/ $0,1 \text{ mL}$ seqüestraram de $60-70\%$ para as amostras de alface lisa e crespa.

Os resultados da amostra hidropônica do trabalho ficaram próximo do resultado da amostra convencional. Por ser cultivado na maioria das vezes sem ou com pouco agrotóxicos, em estudos já supracitados no trabalho o uso desses pode trazer malefícios a saúde e diminuir e até mesmo anular os efeitos benéficos à saúde, e em ambiente protegido esperava-se um melhor desempenho.

Na Figura 7, tem-se a curva de calibração obtida com o padrão Trolox, que relaciona a concentração de Trolox utilizada com a média das absorvâncias. Com a curva padrão também observa-se a equação da reta e o coeficiente de determinação linear (R^2).

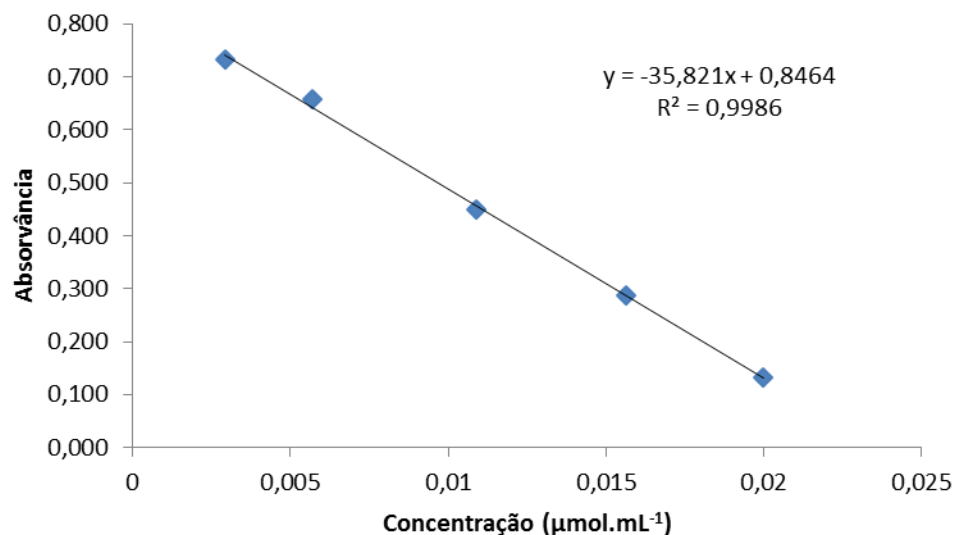


Figura 7: Curva de Calibração do Trolox

O coeficiente de determinação linear (R^2), obtido na curva de calibração, foi de $0,9986$ demonstrando uma boa linearidade. Na Tabela 3 pode-se ver os valores da

concentração de atividade antioxidante equivalente Trolox (expresso em $\mu\text{g ET.g}^{-1}$ amostra em base seca) encontrados com a equação da curva de calibração de Trolox e o desvio padrão para cada amostra.

Tabela 3: Atividade Antioxidante das alfaces em equivalente Trolox.

Cultura	Atividade Antioxidante ($\mu\text{g ET.g}^{-1}$)
Orgânico	0,1450 \pm 0,0014a
Convencional	0,1065 \pm 0,0023b
Hidropônica	0,1048 \pm 0,0010b

*Letras diferentes na mesma coluna indicam valores estatisticamente diferentes ($P < 0,05$).

**Resultados expressos em base seca.

Pode-se observar que o melhor resultado foi encontrado para as alfaces cultivadas no sistema orgânico (0,1450 \pm 0,0014 $\mu\text{g ET.g}^{-1}$), já as amostras de cultivadas no sistema convencional e hidroponica não apresentaram diferença estatística entre elas (0,1065 \pm 0,0023 $\mu\text{gET.g}^{-1}$, 0,1048 \pm 0,0010 $\mu\text{g ET.g}^{-1}$, respectivamente).

4.3 QUANTIFICAÇÃO DE COMPOSTOS FENÓLICOS TOTAIS

Para a quantificação dos compostos fenólicos foi utilizado o reagente de Folin-Ciocalteu, que quantifica os compostos fenólicos com o aumento da intensidade da coloração azul, que pode ser quantificada na faixa de 760 nm. Esse aumento na coloração é devido à formação de complexos através da redução do reagente pelos compostos fenólicos (CRUZ, 2008).

Na Figura 8, tem-se a curva de calibração obtida com ácido gálico, que relaciona a concentrações de ácido gálico utilizadas com a média das absorvâncias. Com a curva padrão também pode-se apresentar a equação da reta e o coeficiente de determinação linear (R^2).

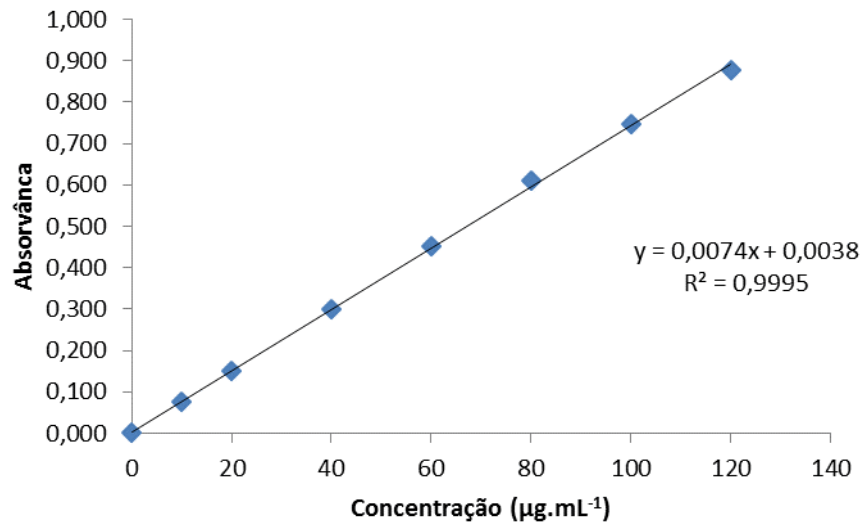


Figura 8: Curva de Calibração do Ácido Gálico

O coeficiente de determinação linear (R^2), obtido na curva de calibração, foi de 0,9997, demonstrando assim, uma boa linearidade. Na Tabela 4 estão presentes os valores da concentração de compostos fenólicos equivalentes a ácido gálico (expresso em µg EAG.g⁻¹ amostra em base seca) encontrados com a equação da curva de calibração de ácido gálico e o desvio padrão para cada amostra.

Tabela 4: Concentração de Compostos Fenólicos Totais nas alfaces (FT)

Cultura	FT (µg EAG.g ⁻¹)
Orgânico	0,2858±0,0015a
Convencional	0,2045±0,0008b
Hidropônica	0,2044±0,0017b

*Letras diferentes na mesma coluna indicam valores estatisticamente diferentes (P<0,05).

**Resultados expressos em base seca.

A maior concentração de compostos fenólicos foi encontrada na amostra de alface orgânica (0,2858±0,0015µg.EAG.g⁻¹), assim como Arbos (2010) pode constatar em seu trabalho que a alface orgânica possui uma concentração maior de compostos fenólicos (108,72 mg EAG.100 g⁻¹). A amostra de alface hidropônica e convencional tiveram resultados

estatisticamente iguais, $0,2044 \pm 0,0017 \mu\text{g.EAG.g}^{-1}$ e $0,2045 \pm 0,0008 \mu\text{g.EAG.g}^{-1}$, respectivamente. Arbos (2010) encontrou a concentração de $92,15 \text{ mg EAG.}100 \text{ g}^{-1}$ para a alface convencional. Mumbach (2014) encontrou em suas pesquisas uma maior concentração de compostos fenólicos em tomates produzidos no cultivo orgânico.

COPETTI (2010) em seu trabalho encontrou uma concentração maior de compostos fenólicos para o cultivo hidropônico de morangos, seguido do cultivo convencional e orgânico, respectivamente. Já Bordignon-Júnior (2008) encontrou em seu trabalho com morangos, teores maiores de compostos fenólicos no cultivo convencional. Segundo Wang et al. (2008) o sistema de cultivo utilizado, localização geográfica e as radiações ultravioleta são possíveis fatores que podem afetar a concentração de fenólicos totais nas plantas, em seus estudos com mirtilo, a maior concentração de compostos fenólicos foi no cultivo orgânico.

4.4 QUANTIFICAÇÃO DE FLAVONOIDES

Para a quantificação dos flavonóides foi utilizado o reagente de AlCl_3 , que quantifica os flavonóides com o aumento da intensidade da coloração amarela. No presente trabalho foi observado que a faixa de absorvância de 425 nm, que o método proposto para realizar as leituras, não obteve uma boa absorvância, necessitando assim uma modificação no método para se obter melhores resultados. Foi realizada uma modificação no comprimento de onda utilizado para as leituras, onde em testes preliminares realizados se observou que os máximos de absorção eram na faixa de 410 nm. Como nos estudos de Luna, V. S. (2013), Ássimos, A. A. (2014) e Chabariberi, R. A. O. et al (2009) optaram por fazer um varredura entre 200 a 500nm para determinar o valor de absorvância que se mostrou-se mais adequado para a análise. Realizou-se uma varredura entre 200 a 500 nm e obteve-se como melhor valor a absorvância de 410 nm.

Na Figura 9, tem-se a curva de calibração obtida com quercitina, que relaciona a concentrações de quercitina utilizadas com a média das absorvâncias. Com a curva padrão também pode-se apresentar a equação da reta e o coeficiente de determinação linear (R^2).

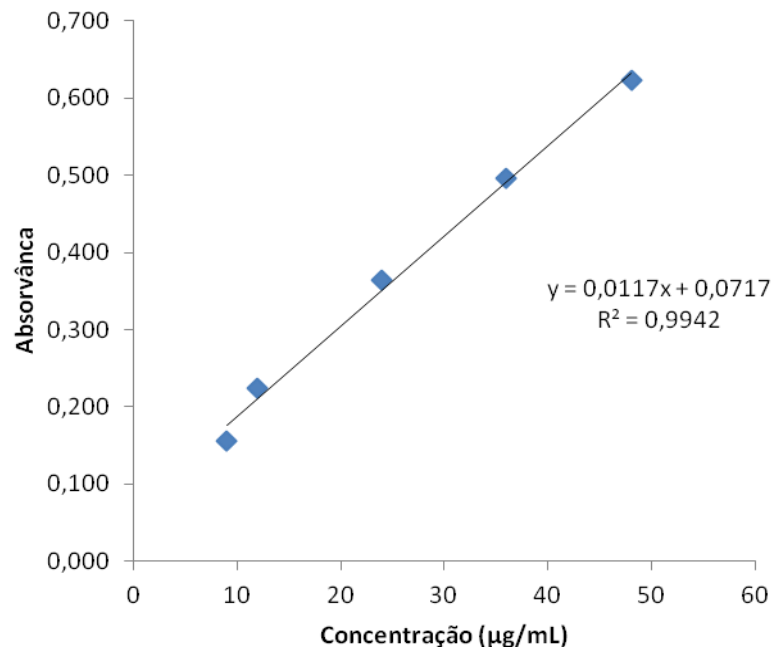


Figura 9: Curva de Calibração da Quercitina

O coeficiente de determinação linear (R^2), obtido na curva de calibração, foi de 0,9942 demonstrando uma boa linearidade. Na tabela 5 estão dispostos os valores da concentração de flavonóides equivalentes a quercitina (expresso em $\mu\text{g EQ.g}^{-1}$ amostra em base seca) encontrados com a equação da curva de calibração de quercitina e o desvio padrão para cada amostra.

Tabela 5: Concentração de Flavonóides

Amostras de Alface	Concentração de Flavonoides ($\mu\text{g.EQ.g}^{-1}$)
Orgânica	$0,3410 \pm 0,0026$ b
Convencional	$0,2700 \pm 0,0030$ c
Hidropônico	$0,5595 \pm 0,0040$ a

*Letras diferentes na mesma coluna indicam valores estatisticamente diferentes ($P < 0,05$).

**Resultados expressos em base seca.

A maior concentração de flavonóides foi encontrada na amostra de alface hidropônica ($0,5595 \pm 0,0040 \mu\text{g.EQ.g}^{-1}$), seguida da alface orgânico ($0,3410 \pm 0,0026 \mu\text{g.EQ.g}^{-1}$)

e no alface convencional ($0,2700 \pm 0,0030 \mu\text{g.EQ.g}^{-1}$). Devido ao limitado número de estudos disponíveis, o enfoque principal na quantificação de flavonóides dos extratos avaliados foi o de verificar a influência do tipo de cultivo no teor dessas substâncias e correlacionar com o potencial antioxidante, pelo fato dos flavonóides serem reconhecidos pela sua ação protetora ao organismo humano.

Hassimotto (2005) pode constatar em seu trabalho um percentual alto de flavonóides nas amostras de alface analisadas, 18 a 21 mg/100g base úmida para a alface crespa e de 67 mg/100g base úmida para a alface roxa.

Uma das funções dos flavonóides está relacionada com a proteção das plantas. Como flavonóides também são fenóis, sua concentração nas plantas também está relacionada ao estresse que a mesma sofre por ataques de insetos, fungos e incidência da luz. Atuando como filtro solar à luz UV-B, os flavonóides absorvem luz na região de comprimento de onda 230-370 nm. Possuem atividade antimicrobiana e, antifúngica, além de possuírem um papel importante na proteção dos insetos (HARBORNE; WILLIAMS, 2000). Como agem na proteção das plantas, o teor elevado de flavonóides obtidos pode ter se dado devido a algum fator de stress que a planta passou como ataque de fungos, por exemplo, já que são cultivados em meio líquido, ou de micro-organismos. Para confirmar essa hipótese seria necessário fazer um acompanhamento durante as etapas do cultivo e uma maior gama de análises.

Segundo Pietta (2000), os flavonóides agem como proteção nas plantas contra os raios UV, pois se acumulam nas camadas epidérmicas e absorvem os raios UV, permitindo a passagem dos raios da região do visível, a exposição da planta a esses raios pode elevar os níveis de flavonóides. Conforme Borguini (2006), a luz é um fator importante na produção de compostos fenólicos pelas plantas, quando mais luz a planta recebe, maiores os índices de compostos fenólicos, porém, o cultivo hidropônico ocorre na sua maioria sobre abrigo da luz, protegido por sombrites, e mesmo assim obteve um índice superior de flavonóides do que a alface orgânica e convencional. Uma hipótese que explica esse valor mais alto de flavonóides é o não consumo desses flavonóides pelos raios solares, isso exige um estudo mais aprofundado para as possíveis causas.

4.5 CORRELAÇÃO DE DADOS

Na tabela 6, apresenta-se os dados obtidos correlacionando-se a atividade antioxidante com o teor de fenólicos totais e flavonóides.

Tabela 6: Correlação de Dados

Correlação	R ²
ET/FLA	0,0964
FLA/FT	0,0834
ET/FT	0,9995
IC₅₀/ET	0,9999
IC₅₀/FT	0,9999
IC₅₀/FLA	0,0900

ET= Equivalente Trolox; FLA= Flavonóides; FT= Fenólicos Totais;

IC₅₀= Concentração para Inibir 50%.

Correlação indica a relação entre duas variáveis, e é usado em estatística para designar a força que mantém unido dois conjuntos de valores. Uma correlação nunca pode ser maior do que 1 ou menor do que -1, quando mais próxima de 1, mais forte é a relação entre os dados, quando mais próximo de zero, menor a relação entre os dados (FILHO; JUNIOR, 2009). Existe uma correlação forte entre ET e FT ($R^2 = 0,9995$), IC₅₀ e ET ($R^2 = 0,9999$) e entre IC₅₀ e FT ($R^2 = 0,9999$). IC₅₀ e ET são meios de se quantificar a atividade antioxidante, por isso é de se esperar uma correlação forte entre elas. Já na correlação de ET e FT e IC₅₀ e FT, sabe-se que os compostos fenólicos possuem atividade antioxidante, então a atividade antioxidante quantificada possui uma forte correlação com a quantidade de compostos fenólicos presente nas amostras. Entre ET e FLA ($R^2 = 0,0964$) e IC₅₀ e FLA ($R^2 = 0,0900$), não obteve-se uma boa correlação, sendo assim os flavonóides não possuem correlação com a atividade antioxidante das amostras. Os flavonóides pertencem a classe dos compostos fenólicos, porém não obteve-se uma boa correlação entre FLA e FT ($R^2 = 0,0834$), sendo assim a quantidade de composto fenólicos não está correlacionada com a presença de flavonóides na amostra. Desta forma, a atividade antioxidante observada nas amostras de alface é devido à presença de outros compostos fenólicos, exceto os flavonóides.

5 CONCLUSÃO

Neste estudo pôde-se comparar a atividade antioxidante da alface em diferentes meios de cultivo (orgânico, convencional e hidropônico). A alface que apresentou a melhor atividade antioxidante foi a cultivada no meio orgânico. As alfaces cultivadas nos meios convencional e hidropônicas não se diferenciaram estatisticamente nos resultados de atividade antioxidante.

Na análise para determinação do teor de compostos fenólicos totais, a alface cultivada no meio orgânico também apresentou o melhor resultado. As alfaces cultivadas no meio convencional e hidropônico não se diferenciaram estatisticamente. Já na análise de teor de flavonóides a alface que obteve o melhor resultado foi a cultivada no meio hidropônico, seguida da alface orgânica e a convencional apresentou o menor resultado.

Desta forma, verificou-se que a atividade antioxidante das amostras de alface analisadas está correlacionada ao teor de compostos fenólicos. Já o teor de flavonóides não apresentou uma boa correlação com a atividade antioxidante.

Portanto, conclui-se que as alfaces produzidas no meio de cultivo orgânico apresentam a maior atividade antioxidante do que as produzidas no meio convencional e hidropônico.

REFERÊNCIAS

AMES, B. N.; SHIGENAGA, M. K.; HAGEN, T. M. Oxidants, antioxidants, and the degenerative diseases of aging. **Proceedings of the National Academy of Sciences**, v. 90, p. 7915-7922, 1993.

AMORIM, E. L. C.; CASTRO, V. T. N. A.; MELO, J. G.; CORRÊA, A. J. C.; SOBRINHO, T. J. S. P. Standard Operating Procedures (SOP) for the spectrophotometric determination of phenolic compounds contained in plant samples. AKYAR, I. **Latest research into Quality Control**. Croatia: in Tech, 2012.

ÁSSIMOS, A. A.. **Avaliação da Concentração e dos Tipos de Flavonoides na Própolis Utilizando Métodos Quimiométricos de Classificação e Calibração**. 2014. 103f. Dissertação. (Mestrado em Química) - Instituto de Ciências Exatas. Universidade Federal de Minas Gerais. 2014.

ARBOS, K. A. Influência de diferentes técnicas de cultivo sobre o potencial antioxidante de crucíferas. **Alimentos e Nutrição Araraquara**, v.15, n.1, p.55-61, 2004

ATKINSON, C. J.; DODDS, P. A. A.; FORD, Y. Y.; LE MIÈRE, J. TAYLOR, J. M.; BLAKE, P. S.; PAUL, N. Effects of cultivar, fruit number and reflected photosynthetically active radiation on *Fragaria x ananassa* productivity an fruit ellagic acid and ascorbic acid concentrations. **Annals of Botany**, v. 97, p. 429-441, 2006.

BARREIROS, A. L. B. S.; DAVID, J. M.; DAVID, J. P. Estresse oxidativo: relação entre geração de espécies reativas e defesa do organismo. **Química Nova**, v. 29, n. 1, p.113-123, 2006.

BONDET, V.; BRAND-WILLIAMS, W.; BERSET, C. Kinetics and mechanisms of antioxidant activity using the DPPH. free radical method. *Lebensmittel-Wissenschaft und-Technologie*, v.30. p.609-615. 1997.

BORGUINI, R. G.; TORRES E. A. F. S. Alimentos Orgânicos: Qualidade Nutritiva e Segurança do Alimento. **Segurança Alimentar e Nutricional**, Campinas, v. 13(2). p. 64-75, 2006.

BOURN, D.; PRESCOTT, J. A comparison of the nutritional value, sensory qualities, and food safety of organically and conventionally produced foods. **Food Science and Nutrition**, v. 42, n. 1, p. 1-34. 2002.

BRANDT, K. **Plant health, soil fertility relationships and food quality**. **Proceedings of Organic Agriculture in Asia**. International Symposium on Soil Fertility, Dankook University, p. 18-30. Korea, 2008

BRANDT, K; MOLGAARD, J. P. Organic agriculture: Does it enhance or reduce the nutritional value of plant foods?. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, v. 81, p. 924-931. 2001.

BRASIL. Decreto nº 10831, de 23 de Dezembro de 2003. Dispõe sobre a agricultura orgânica e dá outras providências. **Diário Oficial [da] República Federativa do Brasil**, Brasília, 24 dez. 2003. Seção 8. p. 8.

BRAVO, L. Polyphenols: Chemistry, dietary sources, metabolism and nutritional significance. **Nutrition Reviews**, v. 56, p. 317-333, 1998.

CÂNDIDO, L.M.B. ; CAMPOS, A.M. Alimentos funcionais: uma revisão. **Boletim da Sociedade Brasileira de Ciência e Tecnologia de Alimentos**. V.29. p. 193-203. 1995.

CAMPOS, M. C. **Territorialização da agricultura orgânica no Paraná: preservando o meio ambiente e produzindo alimentos saudáveis**. Disponível em: <<http://www.igeo.uerj.br/VICBG-2004/Eixo1/e1%20279.htm>>. Acesso em: 28 outubro 2014.

CARVALHO, J. I.; PAGLIUCA, L. G. **Tomate: um mercado que não para de crescer globalmente**. Revista Hortifruti Brasil, Piracicaba, n. 58. p. 6-14. 2007.

CASTELLANE, P. D.; ARAÚJO, J. A. C. Cultivo sem solo – Hidroponia. **SOBInforma**. v. 13. p. 28-29. Itajaí. 1994.

CECCHI, H. M. Fundamentos teóricos e práticos em análise de alimentos. **UNICAMP**. ed. 2. p. 60-67. 2003.

CERQUEIRA, F.M.; MEDEIROS, M.H. G.; AUGUSTO, O. Antioxidantes Dietéticos: Controvérsias e Perspectivas. **Química Nova**, v. 30. n. 2. p. 441–449. jan. 2007.

COPETTI, C. **Atividade antioxidante *in vitro* e compostos fenólicos em morangos (*Fragaria X ananassa* Duch): Influência da cultivar, sistema de cultivo e período de colheita**. 2010. 89f. Dissertação (Mestrado em Ciência dos Alimentos) – Centro de Ciências Agrárias da Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis, 2010.

CHABARIBERI R. de A. O., Pozzi A. C. S., Zeraik M. L., Yariwake J. H..Determinação espectrométrica dos flavonóides das folhas de *Maytenus*(Celastraceae) e de *Passiflora* (Passifloraceae) e comparação com método CLAE-UV. **Revista Brasileira de Farmacognosia**. v. 9. n. 4. p. 860-864. 2009.

CHOI, C. W.; KIM, S. C.; HWANG, S. S.; CHOI, B. K.; AHN, H. J.; LEE, M. Y.; PARK, S. H.; KIM, S. K. Antioxidant activity and free radical scavenging capacity between Korean medicinal plants and flavonoids by assay-guided comparison.**Plant Science**. v. 163. p. 1161-1168. 2002.

CRUZ, A. P. G. Avaliação do efeito da extração e da microfiltração do açaí sobre sua composição e atividade antioxidante. 2008. 88f. Dissertação (Mestre em Ciências) – Programa de Pós-Graduação em Bioquímica, Instituto da Química, Universidade Federal do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro, 2008

DAROLT, M. R. Comparação da Qualidade do Alimento Orgânico com o Convencional In: STRIGHETA, P.C & MUNIZ, J.N. Alimentos Orgânicos: Produção, Tecnologia e Certificação.**Universidade Federal de Viçosa - UFV**. Ed. 1. p. 289-312. Viçosa. 2003.

DEVASAGAYA, T. P.; TILAK, J. C.; BOLOOR, K. K. Free radicals and antioxidants in human health: Current status and future prospects. **Journal of the Association of Physicians of India**.v. 52. p. 794-804. 2004.

DÔRES, R. G. R. **Análise morfológica e fitoquímica da fava d'anta (*Dimorphandramollis*Benth.)**. 2007. 374f. Tese (Doutorado em Fitotecnia) – Programa de Pós-Graduação em Fitotecnia, Universidade Federal de Viçosa, Minas Gerais, 2007.

DRAGLAND, S.; SENOO, H.; WAKE, K.; HOLTE, K.; BLOMHOFF, R. Several culinary and medicinal herbs are important sources of dietary antioxidants. **The Journal of Nutrition**, v. 5. p. 1286-1290. 2003.

DUTHIE, G. G.; GARDNER, P. T.; KYLE, J. A. M. Plant polyphenols: are they the new magic bullets?**Proceedings of the Nutrition Society**.v. 63. p. 599-603. 2003.

FAVARO-TRINDADE, C.S.; MARTELLO, L.S.; MARCATTI, B.; MORETTI, T.S.; PETRUS, R.R.; ALMEIRDA, E.; FERRAZ, J.B.S. Efeito dos Sistemas de Cultivo Orgânico, Hidropônico e Convencional na Qualidade de Alface Lisa. **Brazilian Journal of Food Technology**. v.10,.n.2. p.111-115. 2007.

FILHO, D.B.F.; JÚNIOR, J. A.S. Desvendando os Mistérios do Coeficiente de Correlação de Pearson (r). **Revista Política Hoje**, v. 18. n. 1. 2009.

GIADA, M. L. R. Food phenolics compounds: Main classes, sources and their antioxidant power. MORALES-GONZALEZ, J. A. Oxidative stress and chronic degenerative diseases – A role for antioxidants. **Croatia: in Tech**, 2013.

GOTO, R.; TIVELLI, S.W. **Produção de hortaliças em ambiente protegido: condições subtropicais**. UNESP.p.319. São Paulo. 1998.

HALLIWELL, B.; GUTTERIDGE, J. M. C. **Free radicals in biology and medicine** 4ed. United Kingdom: Oxford University Press, 2007.

HAMZAH, R. U.; JIGAM, A. A.; MAKUN, H. A.; EGWIN, E. C. Antioxidant properties of selected African vegetables, fruits and mushrooms – A review.

HARBONE, J.B.; WILLIAMS, C.A. Advances in flavonoid research since 1992. **Phytochemistry**, v. 55. p. 481-504. 2000.

HASSIMOTTO, N. M. A. **Atividade antioxidante de alimentos vegetais. Estrutura e estudo de biodisponibilidade de antocianinas de amora silvestre (*Morus sp.*)**. 2005. Tese. 176f. Faculdade de Ciências Farmacêutica, Universidade de São Paulo. 2005

HIDROGOOD – Horticultura Moderna. Cartilha básica de orientação ao cultivo hidropônico **HIDROGOOD**. ed. 4. p. 26. 2010.

HOEFKENS, C.; SIOEN, I.; BAERT, K.; MEULENAUER, B.; HENAUW, S.; VANDEKINDEREN, I.; DEVLIEGHERE, F.; OPSOMER, A.; VERBEKE, W.; VAN CAMP, J. **Consuming organic versus conventional vegetables: The effect on nutrient and contaminant intakes**. Food and Chemical Technology. v. 48. p. 3058-3066. 2010.

IGNAT, I.; VOLF, I.; POPA, V. I. A critical review of methods for characterization of polyphenolic compounds in fruits and vegetables. **Food Chemistry**.v 126. p. 1821-1835. 2011.

IRAKLI, M. N., SAMANIDOU, V. F., PAPADOYANNIS, I. N. Development and validation of an HPLC method for the simultaneous determination of tocopherols, tocotrienols and carotenoids in cereals after solid-phase extraction. **Journal of Separation Science**. v. 34.p. 1375–1382. 2011.

LEITE, E. Produtos orgânicos ambientalmente prósperos. **Agroanalysis**, p. 58-62. São Paulo. 1999.

LUNA, V. S. **Padronização Química e Botânica de *Senna occidentalis* LINK. 127f. Dissertação. (Mestrado em Ciências Farmacêuticas) - Universidade Federal de Pernambuco. 2013.**

MAKUN, H. A. **Mycotoxin and food safety in developing countries.** Croatia: in Tech, 2013.

MARTÍNEZ, H. E. P. O uso de cultivo hidropônico de plantas em pesquisa. ed. 3. **Viçosa. Imprensa Universitária. 2002.**

MATYSIK, G.; WÓJCIAK-KOSIOR, M. Optimized method for the determination of flavonoid glycosides and aglycones. **Chromatographia**. v. 61. p. 89-92. 2005.

MELO, E. A.; MACIEL, M. I. S.; LIMA, V. L. G.; LEAL, F. L. L.; CAETANO, A. C. S.; NASCIMENTO, R. J. Capacidade antioxidante de hortaliças usualmente consumida. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**. v. 26(3). p. 639-644. Campinas. 2006

MENEZES, N.L.; SANTOS, O.S.; SCHMIDT, D. Produção de sementes de alface em cultivo hidropônico. **Ciência Rural**. v.31. n.4.p.705-706.2001.

MILLER, R. A.; BRITIGAN, B. E. **Role of antioxidants in microbial pathophysiology.** Revista Clin. Microbial. v. 10. p. 1-18. 1997.

MORALES-GONZALEZ, J. A. Oxidative stress and chronic degenerative diseases – **A role for antioxidants.** Croatia: in Tech, 2013.

MOREIRA, M.A.; FONTES, P.C.R.; CAMARGOS, M.I. Interação zinco e fósforo em solução nutritiva influenciando o crescimento e a produtividade da alface. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**. v.36. n.6. p.903-909. 2001.

MORTON, L. W.; CACCETA, R. A. A.; PUDDEY, I. B.; CROFT, K. D. Chemistry and biological effects of dietary phenolic compounds: Relevance to cardiovascular disease. **Clinical and Experimental Pharmacology and Physiology**. v. 27. p. 152-159. 2000.

MOURA, N. N. Percepção de risco do uso de agrotóxicos: o caso dos produtores de São José de Ubá/ RJ. **Universidade Federal Rural Do Rio De Janeiro**. v.1. Rio de Janeiro. , 2005.

MUMBACH, A. D. **Avaliação do potencial antioxidante do tomate (*Lycopersicon esculentum*) orgânico e convencional.** Universidade Tecnológica Federal do Paraná, Campus Toledo. v. 1. 2013

NIJVELDT, R. J.; NOOD, E.; HOORN, D. E. C.; BOELEN, P. G.; NORREN, K.; LEEUWEN, P. A. M. Flavonoids: A review of probable mechanisms of action and potential applications. **The American Journal of Clinical Nutrition.** v. 74. p. 418-425. 2001.

OHSE, S.; DOURADO NETO, D.; MANFRON, P. A.; SANTOS, O.S. Qualidade de cultivares de alface produzidos em hidroponia. **Scientia Agricola.** v.58. n.1. p.181-185.2001.

ORNELAS, E. A. M. **Química de los alimentos.** Disponível em: <http://www.monografias.com/trabajos90/la-quimica-alimentos/la-quimica-alimentos.shtml>. Acesso em: 19 novembro 2014.

PEDRIALI, C. A.; **Síntese química de derivados hidrossolúveis da rutina: determinação de suas propriedades físico-químicas e avaliação de suas atividades antioxidantes.** 2005. 127f. Dissertação (Mestrado em Tecnologia Bioquímico-Farmacêutica) – Faculdade de Ciências Farmacêuticas, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2005.

PERCIVAL, M. **Antioxidants.** **Clinical Nutrition Insights.** v. 10. p. 1-4. 1998.

PÉREZ, J. A. M.; AGUILAR, T. A. F. Chemistry of Natural Antioxidants and Studies Performed with Different Plants Collected in Mexico, 2012.

PÉREZ-MATUTE, P.; CRUJEIRAS, A. B.; FERNÁNDEZ-GALILEA, M.; PRIETO-HONTORIA, P. Compounds with antioxidant capacity as potential tools against several oxidative stress related disorders: Fact or artifact?. LUSHCHAK, V. I.; GOSPODARYOV, D. V. **Oxidative stress and diseases.** Croatia: in Tech, 2012.

PIETTA, P.G. Flavonoids as antioxidants. **Journal of Natural Products.** v. 63. p. 1035 – 1042. 2000.

RAHMAN, A.; RAHMAN, M. M.; SHEIK, Md. M. I.; RAHMAN, M. M.; SHADLI, S. M.; ALAM, M. F. Free radical scavenging activity and phenolic content of *Cassia sophera* L. **African Journal of Biotechnology.** v. 7. p. 1591-1593. 2008.

RAMALHO, V. C.; JORGE, N. Antioxidantes utilizados em óleos, gorduras e alimentos gordurosos. **Química Nova.** v 29, n. 4, p. 755-760. 2006.

REMBIAKOWSKA, E. Quality of plants products from organic agriculture. **Journal of the Science of Food and Agriculture**. v. 87. p. 2757-2762. 2007.

RIBEIRO, M. C. B. Qualidade de tomates orgânicos e convencionais amadurecidos na planta e após a colheita. 2012. 186f. Tese (Doutorado em Ciência dos Alimentos) – Programa de Pós-Graduação em Ciência dos Alimentos, Universidade Federal de Lavras, Minas Gerais, 2012.

RICE-EVANS, C.; MILLER, N. J.; PAGANGA, G. Structure antioxidant activity relationships of flavonoids and phenolic acids. *Free Radicals* **Biology and Medicine**. v. 20. p. 933-956. 1996.

ROSEN, C. J.; ALLAN, D. L. Exploring the benefits of organic nutrient sources for crop production and soil quality: A review. **Horticulture Technology**. v. 17. p. 422-430. 2007.

SALA, F.C.; COSTA, C.P. ‘Piraroxa’: Cultivar de alface crespa de cor vermelhaintensa. **Horticultura Brasileira**. v.23. n.1, p. 158-159. Brasília, 2005.

SANCHÉZ-MORENO, C. Compuestos polifenólicos: efectos fisiológicos: actividad antioxidante. **Alimentaria**. v. 329. p. 29-40. 2002.

SCALBERT, A.; WILLIAMSON, G. Dietary intake and bioavailability of polyphenols. **Journal of Nutrition**. v. 130. p. 2073-2085. 2000.

SHAHIDI, F.; NACZK, M. Food phenolics sources, chemistry, effects, applications. Lancaster, Pennsylvania. **Technomic Publishing Company Co**. p. 331. 1995.

SIMARELLI, M. **Frutas do Brasil. Frutas e derivados**. ed. 1. Ano 01. Abr. 2006.

SIMÕES C. O.; SCHENKEL E. P.; GOSMÃO G.; MELLO J. C. P.; MENTZ L. A.; PETROVICK P. R. Farmacognosia da Planta ao Medicamento. ed. 5. Porto Alegre/Florianópolis: **Editores UFRGS/ Editora UFSC**, 1999.

SINGLETON, V. L.; ROSSI, J. A. Colorimetry of total phenolics with phosphomolybdic-phosphotungstic acid reagents. **American Journal of Enology and Viticulture**. v. 16. p. 144-168. 1965.

SOBRINHO, T. J. S. P.; SILVA, C. H. T. P.; NASCIMENTO, J. E.; MONTEIRO, J. M. ALBUQUERQUE, U. P.; AMORIM, E. L. C. Validação de metodologia espectrofotométrica

para quantificação dos flavonóides de *Bauhinia cheilantha* (Bonrgard) Steudel. **Brazilian Journal of Pharmaceutical Sciences**. v. 44. p. 683-689. 2008.

SOUSA, C. M. de M.; SILVA, H. R.; VIEIRA-JR, M. V.; AYRES, M. C. C.; COSTA, C. L. S.; ARAÚJO, D. S.; CAVALCANTE, L. C. D.; BARROS, E. D. S.; ARAÚJO, P. B. M.; BRANDÃO, M. S.; CHAVES, M. H. Fenóis totais e atividade antioxidante de cinco plantas medicinais. **Química Nova**. v.30. p. 351-355. 2007.

THYBO, A. K.; EDELENBOS, M.; CHRISTENSEN, L. P.; SORENSEN, J.; THORUP-KRISTENSEN, K. Effect of organic growing systems on sensory quality and chemical composition of tomatoes. **Food Science and Technology**. v. 39. p. 835-843. 2005.

TOMÁS-BARBERÁN, F. A.; ESPÍN, J. C. Phenolic compounds and related enzymes as determinants of quality in fruits and vegetables. **Journal of the Science of Food and Agriculture**. v. 81. p. 853-876. 2001.

VICKERY, M. L.; VICKERY, B. Secondary plant metabolism. **London: MacMillan**, 1981.

WANG, S. Y.; CHEN, C.; SCIARAPPA, W.; WANG, C. Y.; CAMP, M. J. Fruit quality, antioxidant capacity, and flavonoid content of organically and conventionally grown blueberries. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 56, p. 5788 – 5794, 2008.

WINTER, C. K.; DAVIS, S. F. Organic foods. **Journal of Food Science**. v. 71. p. 117-124. 2006.

WOISKY, R.G.; SALATINO, A. Analysis of propolis: some parameters and procedures for chemical quality control. **Journal of Apicultural Research**. v. 37. P.99–105. 1998.

WCRF. **Food, Nutrition and the Prevention of Cancer: a Global Perspective**. 2002. Disponível em: <http://www.aicr.org>.