



UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO DE JANEIRO

CENTRO DE CIÊNCIAS DA SAÚDE

FACULDADE DE FARMÁCIA

MESTRADO EM CIÊNCIAS FARMACÊUTICAS

FLÁVIA FERNANDES PAULINO

**Avaliação dos componentes voláteis e atividade
antioxidante de *Eruca sativa* Mill., *Brassica rapa* L. e
Raphanus sativus L. após processamento.**

Rio de Janeiro

2008

FLÁVIA FERNANDES PAULINO

**Avaliação de Componentes Voláteis e Atividade Antioxidante em *Eruca sativa* Mill.,
Brassica rapa L. e *Raphanus sativus* L. após Processamento**

**Dissertação apresentada à Faculdade de
Farmácia da Universidade Federal de Rio
de Janeiro como requisito para a obtenção
do título de mestre em Ciências
Farmacêuticas.**

Professor Orientador:

Dr^a. Nancy dos Santos Barbi

Professor Co-orientador:

Dr^a. Suzana Guimarães Leitão

RIO DE JANEIRO

2008

P327a Paulino, Flávia Fernandes.

Avaliação de componentes voláteis e atividade antioxidante de *Eruca sativa* Mill., *Brassica rapa* L. e *Raphanus sativus* L. após processamento / Flávia Fernandes Paulino; orientadoras Nancy dos Santos Barbi e Suzana Guimarães Leitão. – Rio de Janeiro : UFRJ/ Faculdade de Farmácia, 2008.

xi, 219f. : il. ; 30cm.

Dissertação (mestrado) – UFRJ / Faculdade de Farmácia / Programa de Pós-graduação em Ciências Farmacêuticas, 2008.

Referências Bibliográficas: f.121-130.

1. *Brassica rapa* L. 2. *Eruca sativa* Mill. 3. *Raphanus sativus* L.
4. Glicosinolatos. 5. Atividade antioxidante. I. Barbi, Nancy dos Santos. II. Leitão, Suzana Guimarães. III. Universidade Federal do Rio de Janeiro, Faculdade de Farmácia. IV. Título.

CDD: 615.32

FLÁVIA FERNANDES PAULINO

**Avaliação de Componentes Voláteis e Atividade Antioxidante em *Eruca sativa* Mill.,
Brassica rapa L. e *Raphanus sativus* L. após Processamento**

Dissertação apresentada à Faculdade de Farmácia da Universidade Federal de Rio de Janeiro como requisito para a obtenção do título de mestre em Ciências Farmacêuticas.

Aprovada em ___/___/2008

Orientadores

Presidente, Professora Dr^a. Nancy dos Santos Barbi
Faculdade de Farmácia, Universidade Federal do Rio de Janeiro

Professora Dr^a. Suzana Guimarães Leitão
Faculdade de Farmácia, Universidade Federal do Rio de Janeiro

Banca Examinadora

Professora Dr^a. Mônica Freiman de Souza Ramos
Faculdade de Farmácia, Universidade Federal do Rio de Janeiro

Professora Dr^a. Lúcia Maria Jaeger de Carvalho
Instituto de Nutrição Josué de Castro, Universidade Federal do Rio de Janeiro

Professor Dr. Antônio Jorge Ribeiro da Silva
Núcleo de Pesquisas de Produtos Naturais, Universidade Federal do Rio de Janeiro

Membros Suplentes

Professora Dr^a. Mirian Ribeiro Leite Moura
Faculdade de Farmácia, Universidade Federal do Rio de Janeiro

Professor Dr. Davyson de Lima Moreira
Farmanguinhos, Fundação Oswaldo Cruz.

Rio de Janeiro

Novembro/2008

DEDICATÓRIA

À minha mãe, Irani, e minhas irmãs, Luciana e Roberta, companheiras de toda a vida,

dedico este trabalho e este pensamento do grande Mahatma Gandhi:

“Nas grandes batalhas da vida, o primeiro passo para a vitória é o desejo de vencer.”

AGRADECIMENTOS

Acima de tudo, a Deus, nosso Pai Maior, pela vida, pela saúde, pela família maravilhosa, pelos amigos, por todas as pessoas importantes que passaram pela minha vida e que dela fazem parte, que me estenderam a mão nas dificuldades e se felicitaram comigo nas alegrias, pela inteligência, pelas excelentes oportunidades ao longo da minha caminhada, por mais uma etapa tão importante que está se encerrando e por ter ficado comigo, me inspirando e me protegendo, por todos os momentos de minha vida. Obrigada, Senhor, pelos “sins” e “nãos” recebidos pois, como Pai Supremo que Sois, sabeis sempre o que é de melhor para Seus filhos. Obrigada, também, Senhor, por todos a quem agradecerei a seguir. Por eles, peço-Vos bênçãos, paz e felicidades, sempre.

À minha família: minha mãe, Irani e minhas irmãs, Luciana e Roberta, que compartilharam comigo desta trajetória de dois anos, me incentivando, aconselhando, sugerindo e, principalmente, torcendo. Um agradecimento também especial ao meu querido pai, Lúcio (*in memoriam*) que, de onde estiver, também vibrou muito por mim. Este trabalho também é de vocês! Amo-os muito.

Ao meu querido Arnaldo Luiz, amigo de longa data e, nos últimos meses, um companheiro paciente, presente, confidente, enfim, um ENTE também muito importante nesta grande fase da minha vida, e à sua família, pelo acompanhamento e torcida nesse finalzinho de curso. Muito obrigada, meu bem!

À minha orientadora, Dr^a. Nancy dos Santos Barbi, pela oportunidade oferecida, afinal, o primeiro passo em uma empreitada é sempre o mais importante, e à minha co-orientadora,

Dr^a. Suzana Guimarães Leitão, ambas pela contribuição científica preciosa, sugestões, contatos a outras instituições que me possibilitaram conhecer outras pessoas com experiências diferentes e, certamente, enriquecedoras, e pelas palavras de apoio e incentivo.

À coordenadora da Pós-graduação em Ciências Farmacêuticas da Faculdade de Farmácia da UFRJ, Dr^a. Gisela Maria Dellamora Ortiz, a Thiago e Marilene, todos sempre incansáveis, pela atenção, dedicação e simpatia ao resolver assuntos de nosso interesse.

Às Professoras Dr^a. Elisabete Pereira dos Santos e Dr^a. Mirian Ribeiro Leite Moura, que fizeram parte da minha banca de acompanhamento, pelas sugestões, esclarecimento de dúvidas, dicas e todo o apoio que se fez necessário.

Aos membros da banca examinadora, Prof^a. Dr^a. Lúcia Maria Jaeger de Carvalho, Prof^a. Dr^a. Mônica Freiman de Souza Ramos, Prof^a. Dr^a. Mirian Ribeiro Leite Moura, Prof. Dr. Antônio Jorge Ribeiro da Silva e Prof. Dr. Davyson de Lima Moreira que, com muita cordialidade, aceitaram o convite para avaliar minha dissertação.

À Prof^a. Sonia Maria Nakamura Pereira, pelo carinho, amizade e apoio inestimáveis, já de longa data, e mais ainda nestes últimos dois anos, por ter cedido as instalações do laboratório para a realização dos experimentos, e à toda a equipe do LACMAC, Prof^a. Helena Keiko Toma, Cristina Pará Campos, por ter me indicado o Departamento de Botânica do Instituto de Biologia da UFRJ para fazer as *exsicatas*, ao Mário Neto, pelas conversas “jogadas fora” e à Sheyla de Paula, pelas risadas gostosas que descontraíam nos momentos mais estressantes.

A todos os professores do Programa de Pós-graduação em Ciências Farmacêuticas, que me apoiaram de alguma forma, desde o processo seletivo, quando me perguntavam como eu estava me saindo, até no empréstimo de materiais. Em especial, à Prof^a. Dr^a. Mônica Freiman de Souza Ramos, pela liofilização de parte das amostras e pelo programa ChemOffice 2005, com direito à demonstração! Meu muito obrigada a todos.

Aos demais professores e funcionários da Faculdade de Farmácia, que me acompanharam, torceram e me incentivaram, de alguma forma, de perto ou de longe. Com certeza, vocês também participaram e contribuíram para que eu chegasse onde estou agora. Obrigada, de coração!

Ao Prof. Dr. Antônio Jorge Ribeiro da Silva, também por algumas conversas bastante esclarecedoras, e à equipe da Central Analítica do Núcleo de Pesquisas de Produtos Naturais (NPPN) Cristina, Gisele, Elza, Cosme e Celso, pela atenção dispensada ao me auxiliarem com a obtenção de cromatogramas, espectros de massas e liofilização das amostras.

À Dr^a. Rosana Conrado Lopes e ao Sr. Jorginaldo William de Oliveira, do Departamento de Botânica do Instituto de Biologia da UFRJ, pela descrição das espécies, confecção e depósito das *exsicatas* no herbário da referida unidade.

Aos responsáveis pelos estabelecimentos comerciais de onde obtive as amostras, Sr. Marcílio, do Supermercado, Srs. Antônio e Adriano, do Hortifruti e Srs. Carlos André e Gisele, da Feira-livre, que me atenderam prontamente ao responderem perguntas sobre o cultivo e a colheita dos produtos e ao trazerem as encomendas, quando a quantidade de que eu precisava excedia ao da prateleira. Muito obrigada!

Ao amigo e irmão de fé Marcelo Aleixo, pelas dúvidas esclarecidas sobre a análise estatística pelo teste t de Student e pela paciência e boa-vontade ao responder de forma tão solícita às minhas solicitações, apesar da correria que a vida nos impõe. Um abraço, amigo!

À Andréia Amaro, pela revisão do “Abstract”. Um beijo!

Ao Sr. Antônio Gomes, da Embrapa Agroindústria de Alimentos, por alguns esclarecimentos prestados sobre processamento de alimentos e alguns resultados obtidos.

Às colegas Danielle, Érica, Gabriela, Rachel, Camila, Vânia e Gláucia, que me acompanharam durante este período, algumas mais próximas fisicamente que outras, mas cada uma teve a sua participação, seja nos bate-papos descontraídos, idas a eventos, na troca de idéias e sugestões. Vocês também foram meus “mestres”, pois meu aprendizado e crescimento como pessoa também se deve a vocês.

À CAPES, pela bolsa concedida.

"A gratidão desbloqueia a abundância da vida. Ela torna o que temos em suficiente, e mais.

Ela torna a negação em aceitação, caos em ordem, confusão em claridade. Ela pode transformar uma refeição em um banquete, uma casa em um lar, um estranho em um amigo.

A gratidão dá sentido ao nosso passado, traz paz para o hoje, e cria uma visão para o
amanhã."

Melody Beattie

“Cada dia a natureza produz o suficiente para nossa carência. Se cada um tomasse o que lhe fosse necessário, não haveria pobreza no mundo e ninguém morreria de fome.”

Mahatma Gandhi

“A natureza é o único livro que oferece um conteúdo valioso em todas as suas folhas.”

Johann Goethe

“A saúde e o prazer são para o homem o que o sol e o ar são para as plantas.”

Massilon

“Em todas as coisas da natureza existe algo de maravilhoso.”

Aristóteles

“A natureza e os livros pertencem aos olhos dos que os vêem.”

Ralph Emerson

RESUMO

PAULINO, Flávia Fernandes. **Avaliação de Componentes Voláteis e Atividade Antioxidante de *Eruca sativa* Mill., *Brassica rapa* L. e *Raphanus sativus* L. após Processamento.** Rio de Janeiro, 2008. Dissertação (Mestrado em Ciências Farmacêuticas) – Faculdade de Farmácia, Universidade Federal do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro, 2008.

Os glicosinolatos são metabólitos secundários encontrados em vegetais da família Brassicaceae, conhecidos pelas propriedades antioxidantes, antitumorais e sensoriais de seus produtos de hidrólise, em sua maioria, isotiocianatos e nitrilas. Para exercerem tais funções, o tecido vegetal precisa ser rompido para que os glicosinolatos e a enzima mirosinase, antes compartimentalizados separadamente, entrem em contato e procedam à reação de hidrólise.

Sabe-se que fatores intrínsecos, extrínsecos e processamento para o consumo, interferem de forma importante nas concentrações dos glicosinolatos. Assim sendo, este trabalho objetivou investigar o comportamento dos derivados de glicosinolatos, tais como isotiocianatos, nitrilas e demais componentes sulfurados, nas folhas de *Eruca sativa* Mill. (rúcula), e raízes de *Brassica rapa* L. (nabo) e *Raphanus sativus* L. (rabanete).

Os vegetais foram obtidos em três estabelecimentos comerciais do município do Rio de Janeiro, nos períodos de janeiro a março (verão) e junho a agosto (inverno), e submetidos, separadamente, antes e após os processamentos de retirada da casca das raízes do nabo e rabanete e refrigeração das folhas de rúcula, à extração de fração volátil por hidrodestilação e posterior análise por CG e CG/EM. Para cada uma das amostras foi realizada avaliação da atividade antioxidante, *in vitro*, pelo método de seqüestro de radicais livres (DPPH) e teor de fenóis totais pelo método de Folin-Ciocalteu.

A análise cromatográfica mostrou que houve prevalência do isotiocianato de ciclopentila para o nabo da Feira-livre, enquanto para as amostras do Supermercado e do hortifruti, o isotiocianato de 2-feniletila e a 2-metil-5-hexenonitrila foram, respectivamente, os mais abundantes. Na rúcula, o isotiocianato de 4-(metiltio)-butila foi o componente majoritário em todas as amostras analisadas, também detectado em concentrações consideráveis no rabanete. No rabanete, o isotiocianato de 4-(metiltio)-3-butenila, também foi detectado em concentrações apreciáveis. Outros isotiocianatos e nitrilas também foram detectados, em concentrações menores, assim como hidrocarbonetos, ácidos graxos e seus ésteres, álcoois, cetonas e terpenos.

Os resultados dos testes de atividade antioxidante mostraram que o rabanete foi o vegetal que apresentou maior potencial antioxidante, seguido da rúcula e do nabo.

A análise cromatográfica e a avaliação da atividade antioxidante permitiram verificar que o processamento por resfriamento, a retirada da casca e a época do ano influenciam no teor de metabólitos produzidos pelo vegetal, especificamente de derivados voláteis de glicosinolatos da família Brassicaceae.

Palavras-chave: *Brassica rapa* L., *Eruca sativa* Mill., *Raphanus sativus* L., glicosinolatos, atividade antioxidante.

ABSTRACT

PAULINO, Flávia Fernandes. **Avaliação de Componentes Voláteis e Atividade Antioxidante de *Eruca sativa* Mill., *Brassica rapa* L. e *Raphanus sativus* L. após Processamento.** Rio de Janeiro, 2008. Dissertação (Mestrado em Ciências Farmacêuticas) – Faculdade de Farmácia, Universidade Federal do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro, 2008.

Glucosinolates are secondary metabolites found in plants of the family Brassicaceae, known by antioxidant properties, anticarcinogenic and sensory of their hydrolysis products, most of them, nitriles and isothiocyanates. To play such functions, plant tissue must be disrupted so that glucosinolates and enzyme myrosinase, previously compartmentalized separately, come into contact and hydrolysis reaction can be carried out.

It is known that intrinsic and extrinsic factors, and the processes for consumption, interfere significantly in glucosinolates concentrations. Thus, this study aimed to investigate the behavior of glucosinolates derivatives, such as isothiocyanates, nitriles or other sulfur compounds, in the *Eruca sativa* Mill. (rocket) leaves, and in *Brassica rapa* L. (turnip) and *Raphanus sativus* L. (radish) roots.

Raw materials were acquired in three commercial markets in the municipality of Rio de Janeiro, from January to March (summer) and from June to August (winter), and submitted separately, before and after the process of withdrawal of the bark of turnip and radish roots and cooling of rocket leaves, to extraction fraction of volatile by hydrodistillation and subsequent analysis by GC and GC / MS. For each sample the assessment of antioxidant activity “in vitro”, by scavenging of free radicals (DPPH), and total phenol content by Folin-Ciocalteu methods were carried out.

Chromatographic analysis showed a prevalence of cyclopentyl isothiocyanate in turnip's Free-fair, while for Supermarket and Hortifruti samples, 2-phenylethyl isothiocyanate and 2-methyl-5-hexenitrile were, respectively, the most abundant. In rocket, 4-(methylthio)-butyl isothiocyanate was the major component in all samples analyzed, also detected at high concentrations in the radish. In radish, 4-(methylthio)-3-butenyl isothiocyanate, was also detected in appreciable concentrations. Other isothiocyanates and nitriles were also found at lower concentrations, as well as fatty acids and esters, alcohols, ketones and terpenes.

The results of antioxidant activity analysis have shown that radish was the vegetable that presented the highest antioxidant potential, followed by rocket and turnip.

Chromatographic analysis and the evaluation of the antioxidant activity allowed the verification that cooling, cutting with the withdrawal of the rind and the time of the year influence in the metabolites content produced by the vegetable, specifically in the volatile derivatives of glucosinolates in the case of the Brassicaceae family.

Keywords: *Brassica rapa* L., *Eruca sativa* Mill., *Raphanus sativus* L., glucosinolates, antioxidant activity.

LISTA DE SIGLAS E ABREVIATURAS

AICR – American Institute of Cancer Research

ADN – ácido desoxirribonucléico

°C – graus Celsius

CE₂₅ – concentração de extrato necessária para exercer 25% de um efeito máximo estimado em 100%

CG-DIC – cromatografia em fase gasosa com detector de ionização por chama

CG/EM – cromatografia em fase gasosa acoplada à espectrometria de massas

C.I.M. – concentração inibitória mínima

Conc. (%) – concentração percentual

DPPH - 2,2-difenil-1-picril-hidrazila

D. P. – desvio-padrão

ERO – espécies reativas do oxigênio

ESP – proteína epitioespecífica

E.U.A. – Estados Unidos da América

FOSHU – Foods for Specified Health Use

g - grama

IR – Índice de retenção

LDL – lipoproteína de baixa densidade

µg/ml – micrograma por mililitro

µmol/g – micromol por grama

ml – mililitro

min. - minutos

MS – Ministério da Saúde

NCFI – nabo com casca adquirido na Feira-livre no mês de junho

NCFV - nabo com casca adquirido na Feira-livre no mês de dezembro

NCHV - nabo com casca adquirido no Hortifruti no mês de fevereiro

NCSI - nabo com casca adquirido no Supermercado no mês de julho

NCSV - nabo com casca adquirido no Supermercado no mês de janeiro

NSFI - nabo sem casca adquirido na Feira-livre no mês de junho

NSFV - nabo sem casca adquirido na Feira-livre no mês de dezembro

NSHV - nabo sem casca adquirido no Hortifruti no mês de fevereiro

NSSI - nabo sem casca adquirido no Supermercado no mês de julho

NSSV - nabo sem casca adquirido no Supermercado no mês de janeiro

nm - nanometro

pH – potencial hidrogênio iônico

R^2 – coeficiente de correlação

RCHI – rabanete com casca adquirido no Hortifruti no mês de julho

RCHV - rabanete com casca adquirido no Hortifruti no mês de fevereiro

RFHI – rúcula não refrigerada adquirida no Hortifruti no mês de julho

RFHV - rúcula não refrigerada adquirida no Hortifruti no mês de março

RFSI - rúcula não refrigerada adquirida no Supermercado no mês de julho

RFSV – rúcula não refrigerada adquirida no Supermercado no mês de março

RRHI - rúcula refrigerada adquirida no Hortifruti no mês de julho

RRHV - rúcula refrigerada adquirida no Hortifruti no mês de março

RRSI - rúcula refrigerada adquirida no Supermercado no mês de julho

RRSV - rúcula refrigerada adquirida no Supermercado no mês de março

RSHI - rabanete sem casca adquirido no Hortifruti no mês de julho

RSHV - rabanete sem casca adquirido no Hortifruti no mês de fevereiro

SPME – *Solid Phase Microextraction* (Microextração em Fase Sólida)

TR – tempo de retenção

u.m.a. – unidade de massa atômica

SUMÁRIO

DEDICATÓRIA	i
AGRADECIMENTOS	ii
RESUMO	vii
ABSTRACT	ix
LISTA DE SIGLAS E ABREVIATURAS	xi
SUMÁRIO	xiv
ÍNDICE DE FIGURAS	xvii
ÍNDICE DE QUADROS	xxv
1. INTRODUÇÃO	01
1.1 A família Brassicaceae.	02
1.2 Glicosinolatos.	03
1.2.1 Histórico.	06
1.2.2 Biossíntese	07
1.2.3 Produtos da hidrólise enzimática.	09
1.2.4 Identificação de derivados de glicosinolatos.	12
1.2.5 Influência do processamento no teor de glicosinolatos e produtos de hidrólise em Brassicaceae.	13
1.2.6 Aspectos quimiotaxonômicos, distribuição e evolução de glicosinolatos.	14
1.2.7 Metabolismo dos glicosinolatos em mamíferos.	15
1.2.8 Atividade biológica dos glicosinolatos e derivados.	17
1.2.9 Ação antioxidante.	19
1.3 A espécie <i>Brassica rapa</i> L. (nabo).	27
1.3.1 Botânica.	27

1.3.2 Estudos químicos realizados.	28
1.3.3 Atividade biológica.	32
1.4 A espécie <i>Eruca sativa</i> Mill. (rúcula).	32
1.4.1 Botânica.	32
1.4.2 Estudos químicos realizados.	33
1.4.3 Atividade biológica.	35
1.5 A espécie <i>Raphanus sativus</i> L. (rabanete).	37
1.5.1 Botânica.	37
1.5.2 Estudos químicos realizados.	38
1.5.3 Atividade biológica.	41
2 OBJETIVOS	44
2.1 Objetivo geral.	44
2.2 Objetivos específicos .	44
3 PARTE EXPERIMENTAL	44
3.1 Coleta do material.	45
3.2 Preparo das <i>exsicatas</i> .	45
3.3 Extração e análise das frações voláteis por CG e CG/EM.	49
3.4 Atividade antioxidante.	51
3.5 Determinação do teor de fenóis totais.	52
4 RESULTADOS E DISCUSSÃO	53
4.1 A espécie <i>Brassica rapa</i> L. (nabo)	54
4.1.1 Amostras provenientes da Feira-livre.	54
4.1.1.1 Identificação de componentes das frações voláteis das raízes do nabo	54
4.1.2 Amostras provenientes do Supermercado	66

4.1.2.1 Identificação de componentes das frações voláteis das raízes do nabo	66
4.1.3 Amostra proveniente do Hortifruti	76
4.1.3.1 Identificação de componentes das frações voláteis das raízes do nabo	76
4.1.1.2 Atividade antioxidante	83
4.2 A espécie <i>Eruca sativa</i> Mill. (rúcula)	87
4.2.1 Amostra proveniente do Supermercado	87
4.2.1.1 Identificação de componentes das frações voláteis das folhas de rúcula.	87
4.2.2 Amostra proveniente do Hortifruti	96
4.2.2.1 Identificação de componentes das frações voláteis das folhas de rúcula	96
4.2.1.2 Atividade antioxidante	103
4.3 A espécie <i>Raphanus sativus</i> L. (rabanete)	107
4.3.1 Identificação da fração volátil das raízes do rabanete	107
4.3.1.1 Amostra proveniente do Hortifruti	107
4.3.2 Atividade antioxidante	115
5 CONCLUSÕES	119
6 REFERÊNCIAS	121
ANEXOS	131

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1. Estrutura básica de um glicosinolato (1) e seus tipos estruturais conforme o ácido aminado de origem.	04
Figura 2. Glicosinolatos encontrados no brócolis.	05
Figura 3: Glicosinolato de 2-propenila ou de alila (sinigrina) e glicosinolato de 4-hidróxibenzila (sinalbina).	06
Figura 4: Biossíntese dos glicosinolatos.	08
Figura 5: Compartimentalização de β -glicosidases e seu substrato, os glicosinolatos.	09
Figura 6: Rearranjo de Lossen para formação de isotiocianatos.	10
Figura 7: Hidrólise enzimática de glicosinolatos e seus diferentes produtos.	11
Figura 8: Derivados de glicosinolatos detectados em couve-flor, nabo, mostarda e rabanete.	13
Figura 9: Mecanismo da inibição da proliferação de células cancerosas por substâncias fenólicas e isotiocianatos.	21
Figura 10: Crambeno (1-ciano 2-hidróxi 3-butenol).	23
Figura 11: Indol-3-carbinol.	24
Figura 12: O radical 2,2-difenil-1-picril-hidrazila (violeta) e o produto de sua redução, α - α -difenil- β -picril hidrazina (incolor).	26
Figura 13: Flores, raízes e desenho de <i>Brassica rapa</i> L.	28
Figura 14: 4-oxoisoforona.	31
Figura 15: Estruturas químicas da gliconapina (1) e da glicobrassicinapina (2).	31
Figura 16: Flor, folhas e desenho de <i>Eruca sativa</i> (rúcula).	33
Figura 17: Estrutura dos principais glicosinolatos identificados em espécies de <i>Eruca</i> e	

<i>Diplotaxis</i> e os isotiocianatos derivados.	34
Figura 18: Flor e raízes de <i>Raphanus sativus</i> L.	38
Figura 19: Os principais glicosinolatos encontrados no rabanete.	38
Figura 20: Estrutura química do isotiocianato de 4-metiltio-3-butenila.	40
Figura 21: Estrutura química da <i>cis</i> -rafanusanina e da <i>trans</i> -rafanusanina.	40
Figura 22: Exsicata do nabo adquirido na Feira-livre e etiqueta de registro do herbário.	46
Figura 23: Exsicata do rabanete adquirido na Feira-livre e etiqueta de registro do herbário.	46
Figura 24: Exsicata do rabanete adquirido no Hortifruti e etiqueta de registro do herbário.	47
Figura 25: Exsicata do rabanete adquirido no Supermercado e etiqueta de registro do herbário.	47
Figura 26: Exsicata da rúcula adquirida na Feira-livre e etiqueta de registro do herbário.	48
Figura 27: Exsicata da rúcula adquirida no Hortifruti e etiqueta de registro do herbário.	48
Figura 28: Exsicata da rúcula adquirida no Supermercado e etiqueta de registro do herbário.	49
Figura 29: Sesquiterpenos identificados na fração volátil NSFV.	65
Figura 30: Gráfico da atividade antioxidante (%) <i>versus</i> concentração (µg/ml) do extrato aquoso do padrão de <i>Ginkgo biloba</i> EGb 761.	83
Figura 31: Gráfico da atividade antioxidante (%) <i>versus</i> concentração (µg/ml) de extrato aquoso de <i>Brassica rapa</i> L. (nabo) obtido na Feira-livre durante o mês de dezembro.	84
Figura 32: Gráfico da atividade antioxidante (%) <i>versus</i> concentração (µg/ml) de extrato aquoso de <i>Brassica rapa</i> L. (nabo) obtido na Feira-livre durante o mês de junho.	84
Figura 33: Estruturas químicas dos terpenos α -cubenol e fitol detectados na rúcula adquirida no Supermercado.	96

Figura 34: β -ionona.	98
Figura 35: Gráfico da atividade antioxidante (%) <i>versus</i> concentração ($\mu\text{g/ml}$) de extrato metanólico de <i>Eruca sativa</i> Mill. (rúcula) obtida no Supermercado no mês de março.	105
Figura 36: Gráfico da atividade antioxidante (%) <i>versus</i> concentração ($\mu\text{g/ml}$) de extrato metanólico de <i>Eruca sativa</i> Mill. (rúcula) obtida no Supermercado no mês de julho.	105
Figura 37: Gráfico da atividade antioxidante (%) <i>versus</i> concentração ($\mu\text{g/ml}$) de extrato aquoso de <i>Raphanus sativus</i> L. (rabanete) obtido no Hortifruti no mês de fevereiro.	116
Figura 38: Gráfico da atividade antioxidante (%) <i>versus</i> concentração ($\mu\text{g/ml}$) de extrato aquoso de <i>Raphanus sativus</i> L. (rabanete) obtido no Hortifruti no mês de julho.	116
Figura 39: Cromatograma obtido por CG/EM do nabo com casca proveniente da Feira-livre adquirido em dezembro (NCFV).	132
Figura 40: Cromatograma obtido por CG/EM do nabo sem casca proveniente da Feira-livre adquirido em dezembro (NSFV).	133
Figura 41: Cromatograma obtido por CG-DIC do nabo com casca proveniente da Feira-livre adquirido em junho (NCFI).	134
Figura 42: Cromatograma obtido por CG/EM do nabo com casca proveniente da Feira-livre adquirido em junho (NCFI).	135
Figura 43: Cromatograma obtido por CG-DIC do nabo sem casca proveniente da Feira-livre adquirido em junho (NSFI).	136
Figura 44: Cromatograma obtido por CG/EM do nabo sem casca proveniente da Feira-livre adquirido em junho (NSFI).	137
Figura 45: Cromatograma obtido por CG-DIC do nabo com casca proveniente do Supermercado adquirido em janeiro (NCSV).	138
Figura 46: Cromatograma obtido por CG/EM do nabo com casca proveniente do Supermercado adquirido em janeiro (NCSV).	139

Figura 47: Cromatograma obtido por CG-DIC do nabo sem casca proveniente do Supermercado adquirido em janeiro (NSSV).	140
Figura 48: Cromatograma obtido por CG/EM do nabo sem casca proveniente do Supermercado adquirido em janeiro (NSSV).	141
Figura 49: Cromatograma obtido por CG-DIC do nabo com casca proveniente do Supermercado adquirido em julho (NCSI).	142
Figura 50: Cromatograma obtido por CG/EM do nabo com casca proveniente do Supermercado adquirido em julho (NCSI).	143
Figura 51: Cromatograma obtido por CG-DIC do nabo sem casca proveniente do Supermercado adquirido em julho (NSSI).	144
Figura 52: Cromatograma obtido por CG/EM do nabo com casca proveniente do Hortifruti adquirido em fevereiro (NCHV).	145
Figura 53: Cromatograma obtido por CG/EM do nabo sem casca proveniente do Hortifruti adquirido em fevereiro (NSHV).	146
Figura 54: Cromatograma obtido por CG-DIC do nabo com casca proveniente do Hortifruti adquirido em julho (NCHI).	147
Figura 55: Cromatograma obtido por CG/EM do nabo com casca proveniente do Hortifruti adquirido em julho (NCHI).	148
Figura 56: Cromatograma obtido por CG-DIC do nabo sem casca proveniente do Hortifruti adquirido em julho (NSHI).	149
Figura 57: Cromatograma obtido por CG/EM do nabo sem casca proveniente do Hortifruti adquirido em julho (NSHI).	150
Figura 58: Cromatograma obtido por CG/EM das folhas de rúcula não refrigeradas provenientes do Supermercado adquiridas em março (RFSV).	151
Figura 59: Cromatograma obtido por CG/EM das folhas de rúcula refrigeradas	

provenientes do Supermercado adquiridas em março (RRSV).	152
Figura 60: Cromatograma obtido por CG-DIC das folhas de rúcula não refrigeradas provenientes do Supermercado adquiridas em julho (RFSI).	153
Figura 61: Cromatograma obtido por CG/EM das folhas de rúcula não refrigeradas provenientes do Supermercado adquiridas em julho (RFSI).	154
Figura 62: Cromatograma obtido por CG-DIC das folhas de rúcula refrigeradas provenientes do Supermercado adquiridas em julho (RRSI).	155
Figura 63: Cromatograma obtido por CG/EM das folhas de rúcula refrigeradas provenientes do Supermercado adquiridas em julho (RRSI).	156
Figura 64: Cromatograma obtido por CG/EM das folhas de rúcula não refrigeradas provenientes do Hortifruti adquiridas em março (RFHV).	157
Figura 65: Cromatograma obtido por CG/EM das folhas de rúcula refrigeradas provenientes do Hortifruti adquiridas em março (RRHV).	158
Figura 66: Cromatograma obtido por CG-DIC das folhas de rúcula não refrigeradas provenientes do Hortifruti adquiridas em julho (RFHI).	159
Figura 67: Cromatograma obtido por CG/EM das folhas de rúcula não refrigeradas provenientes do Hortifruti adquiridas em julho (RFHI).	160
Figura 68: Cromatograma obtido por CG-DIC das folhas de rúcula refrigeradas provenientes do Hortifruti adquiridas em julho (RRHI).	161
Figura 69: Cromatograma obtido por CG/EM das folhas de rúcula refrigeradas provenientes do Hortifruti adquiridas em julho (RRHI).	162
Figura 70: Cromatograma obtido por CG-DIC do rabanete com casca proveniente do Hortifruti adquirido em fevereiro (RCHV).	163
Figura 71: Cromatograma obtido por CG/EM do rabanete com casca proveniente do Hortifruti adquirido em fevereiro (RCHV).	164

Figura 72: Cromatograma obtido por CG-DIC do rabanete sem casca proveniente do Hortifruti adquirido em fevereiro (RSHV).	165
Figura 73: Cromatograma obtido por CG/EM do rabanete sem casca proveniente do Hortifruti adquirido em fevereiro (RSHV).	166
Figura 74: Cromatograma obtido por CG-DIC do rabanete com casca proveniente do Hortifruti adquirido em julho (RCHI).	167
Figura 75: Cromatograma obtido por CG-DIC do rabanete sem casca proveniente do Hortifruti adquirido em julho (RSHI).	168
Figura 76: Espectro de massas por impacto de elétrons a 70 eV do isotiocianato de isopropila com TR 3,57 min. da fração NCFV.	169
Figura 77: Espectro de massas do isotiocianato de isopropila (1) NIST107.LIB (2) NIST21.LIB.	169
Figura 78: Espectro de massas por impacto de elétrons a 70 eV do isotiocianato de <i>sec</i> -butila com TR 5,53 min. da fração NSFV.	170
Figura 79: Espectro de massas do isotiocianato de <i>sec</i> -butila (1) NIST107.LIB (2) NIST21.LIB.	170
Figura 80: Espectro de massas por impacto de elétrons a 70 eV da 2-metil-5-hexenonitrila com TR 4,06 min. da fração NSFV.	171
Figura 81: Espectro de massas da 2-metil-5-hexenonitrila (1) NIST107.LIB (2) NIST21.LIB	171
Figura 82: Espectro de massas por impacto de elétrons a 70 eV do isotiocianato de ciclopentila com TR 11,02 min. da fração NSFV.	172
Figura 83: Espectro de massas do isotiocianato de ciclopentila (1) NIST107.LIB (2) NIST21.LIB.	172
Figura 84: Espectro de massas por impacto de elétrons a 70 eV do isotiocianato de 3-	

butenila com TR 7,24 min. da fração NSFV.	173
Figura 85: Espectro de massas do isotiocianato de 3-butenila (1) NIST107.LIB (2) NIST21.LIB.	173
Figura 86: Espectro de massas por impacto de elétrons a 70 eV do isotiocianato de 2-feniletila com TR 28,11 min. da fração NSFV.	174
Figura 87: Espectro de massas do isotiocianato de 2-feniletila (1) NIST107.LIB (2) NIST21.LIB.	174
Figura 88: Espectro de massas por impacto de elétrons a 70 eV do benzopropanonitrila com TR 16,43 min. da fração NSFI.	175
Figura 89: Espectro de massas da benzopropanonitrila (1) NIST107.LIB (2) NIST21.LIB.	175
Figura 90: Espectro de massas por impacto de elétrons a 70 eV e biblioteca de espectros (NIST05.LIB) do trissulfeto de dimetila com TR 6,12 min. da fração NSSV.	176
Figura 91: Espectro de massas por impacto de elétrons a 70 eV e biblioteca de espectros (NIST05.LIB) do isotiocianato de 3-fenilpropila com TR 30,51 min. da fração NCSI.	177
Figura 92: Espectro de massas por impacto de elétrons a 70 eV do isotiocianato de benzila com TR 15,63 min. da fração NCSI.	178
Figura 93: Espectro de massas por impacto de elétrons a 70 eV do isotiocianato de 6-(metiltio) hexila com TR 33,73 min. da fração NCSI.	178
Figura 94: Espectro de massas por impacto de elétrons a 70 eV e biblioteca de espectros do isotiocianato de butila com TR 5,02 min. da fração NSSV.	179
Figura 95: Espectro de massas por impacto de elétrons a 70 eV do octanonitrila com TR 9,55 min. da fração NCHV.	180
Figura 96: Espectro de massas da octanonitrila (1) NIST107.LIB (2) NIST21.LIB.	180
Figura 97: Espectro de massas por impacto de elétrons a 70 eV do 6-(metiltio)	

hexanonitrila com TR 21,93 min. da fração NSHV.	181
Figura 98: Espectro de massas por impacto de elétrons a 70 eV do isotiocianato de 4-(metiltio) butila com TR 24,64 min. da fração RFSI.	181
Figura 99: Espectro de massas por impacto de elétrons a 70 eV e biblioteca de espectros (NIST05.LIB) do ciclotiooctano com TR 47,42 min. da fração RRSI.	182
Figura 100: Espectro de massas por impacto de elétrons a 70 eV do isotiocianato de 4-metil pentila com TR 14,44 min. da fração RFHV.	183
Figura 101: Espectro de massas do isotiocianato de 4-metil pentila (1) NIST107.LIB (2) NIST21.LIB.	183
Figura 102: Espectro de massas por impacto de elétrons a 70 eV do isotiocianato de 5-(metiltio) pentila com TR 31,6 min. da fração NSHV.	184
Figura 103: Espectro de massas por impacto de elétrons a 70 eV do isotiocianato de 4-(metiltio)-3-butenila com TR 24,07 min. da fração RCHV.	184
Figura 104: Estruturas químicas dos derivados de glicosinolatos detectados nas raízes de <i>Brassica rapa</i> L. e <i>Raphanus sativus</i> L. e nas folhas de <i>Eruca sativa</i> Mill.	185

ÍNDICE DE QUADROS

Quadro 1: Derivados de glicosinolatos identificados em <i>B rapa</i> L. var. <i>laciniitolia</i> Kitamura e <i>B. rapa</i> L. subvar. <i>Hiroshimana</i> Kitamura.	29
Quadro 2: Composição da fração volátil das raízes do nabo com casca proveniente da Feira-livre adquirido em dezembro (NCFV).	59
Quadro 3: Composição da fração volátil das raízes do nabo sem casca proveniente da Feira-livre adquirido em dezembro (NSFV).	60
Quadro 4: Composição da fração volátil das raízes do nabo com casca proveniente da Feira-livre adquirido em junho (NCFI).	62
Quadro 5: Composição da fração volátil das raízes do nabo sem casca proveniente da Feira-livre adquirido em junho (NSFI).	64
Quadro 6: Derivados de glicosinolatos identificados fração volátil das raízes do nabo da Feira-livre adquirido em dezembro e em junho.	65
Quadro 7: Composição da fração volátil das raízes do nabo com casca proveniente do Supermercado adquirido em janeiro (NCSV).	70
Quadro 8: Composição da fração volátil das raízes do nabo sem casca proveniente do Supermercado adquirido em janeiro (NSSV).	71
Quadro 9: Composição da fração volátil das raízes do nabo com casca proveniente do Supermercado adquirido em julho (NCSI).	73
Quadro 10: Composição da fração volátil das raízes do nabo sem casca proveniente do Supermercado adquirido em julho (NSSI).	74
Quadro 11: Derivados de glicosinolatos identificados das raízes do nabo proveniente do Supermercado adquirido em janeiro e em julho.	75
Quadro 12: Composição da fração volátil do nabo com casca proveniente do Hortifruti adquirido em fevereiro (NCHV).	78

Quadro 13: Composição da fração volátil do nabo sem casca proveniente do Hortifruti adquirido em fevereiro (NSHV).	79
Quadro 14: Composição da fração volátil do nabo com casca proveniente do Hortifruti adquirido em julho (NCHI).	80
Quadro 15: Composição da fração volátil do nabo sem casca proveniente do Hortifruti adquirido em julho (NSHI).	81
Quadro 16: Derivados de glicosinolatos detectados no nabo proveniente do Hortifruti adquirido em fevereiro.	82
Quadro 17: Atividade antioxidante, expressa em $CE_{25} \pm$ desvio-padrão (D.P.) e teor de fenóis totais, expresso em miligramas de equivalente de ácido gálico por grama de amostra (mg/g), do nabo proveniente da Feira-livre durante os meses de dezembro e junho.	86
Quadro 18: Composição da fração volátil das folhas de rúcula não refrigerada proveniente do Supermercado adquirida em março (RFSV).	91
Quadro 19: Composição da fração volátil das folhas de rúcula refrigerada proveniente do Supermercado adquirida em março (RRSV).	92
Quadro 20: Composição da fração volátil das folhas de rúcula não refrigerada proveniente do Supermercado adquirida em julho (RFSI).	93
Quadro 21: Composição da fração volátil das folhas de rúcula refrigerada proveniente do Supermercado adquirida em julho (RRSI).	94
Quadro 22: Derivados de glicosinolatos detectados nas folhas de rúcula provenientes do Supermercado adquiridas em março e em julho.	95
Quadro 23: Composição da fração volátil das folhas de rúcula não refrigerada proveniente do Hortifruti, adquiridas em março (RFHV).	99
Quadro 24: Composição da fração volátil das folhas de rúcula refrigerada provenientes	

do Hortifruti, adquiridas em março (RRHV).	100
Quadro 25: Composição da fração volátil das folhas de rúcula não refrigeradas provenientes do Hortifruti, adquiridas em julho (RFHI).	100
Quadro 26: Composição da fração volátil das folhas de rúcula proveniente do Hortifruti adquiridas em julho (RRHI).	101
Quadro 27: Derivados de glicosinolatos detectados em rúcula adquirida no Hortifruti nos períodos em março e em julho.	103
Quadro 28: Atividade antioxidante, expressa em $CE_{25} \pm$ desvio-padrão (D.P.) e teor de fenóis totais, expresso em miligramas de equivalente de ácido gálico por grama de amostra (mg/g), da rúcula proveniente do Supermercado durante os meses de março e julho.	106
Quadro 29: Composição da fração volátil das raízes de rabanete com casca proveniente do Hortifruti, adquirido em fevereiro (RCHV).	110
Quadro 30: Composição da fração volátil das raízes de rabanete sem casca proveniente do Hortifruti, adquirido em fevereiro (RSHV).	111
Quadro 31: Composição da fração volátil das raízes do rabanete com casca proveniente do Hortifruti, adquirido em julho (RCHI).	112
Quadro 32: Composição da fração volátil das raízes do rabanete sem casca proveniente do Hortifruti adquirido em julho (RSHI).	113
Quadro 33: Derivados de glicosinolatos detectados na fração volátil das raízes do rabanete adquirido no Hortifruti em fevereiro e em julho.	114
Quadro 34: Atividade antioxidante, expressa em $CE_{25} \pm$ desvio-padrão (D.P.) e teor de fenóis totais, expresso em miligramas de equivalente de ácido gálico por grama de amostra (mg/g), do rabanete proveniente do Hortifruti durante os meses de fevereiro e julho.	117

1 INTRODUÇÃO

Embora remonte às origens da civilização, a relação entre alimentação e saúde nunca foi tão estreita quanto nos dias de hoje, em vista do risco iminente do desenvolvimento de doenças crônico-degenerativas, como câncer, diabetes, doenças cardiovasculares e outras (Carvalho *et al.*, 2006). A busca e a descoberta de componentes bioativos em alimentos é uma tendência mundial, caracterizando funcionalidade e sugerindo a possibilidade de melhora na saúde pública através da dieta. O interesse na composição de alimentos tem aumentado para além dos nutrientes, indo de encontro a substâncias capazes de prevenir ou auxiliar no tratamento de doenças crônicas. Em particular, tem havido uma explosão do interesse dos consumidores no papel de alimentos específicos ou componentes alimentares fisiologicamente ativos - os alimentos funcionais (Hasler, 1998). É o caso do extrato de alho, da semente da linhaça, dos cereais, da soja e vegetais da família Brassicaceae - classificados como alimentos funcionais ou nutracêuticos.

O termo - alimento funcional - surgiu no Japão na década de 80, fruto de um programa do governo que tinha como objetivo desenvolver alimentos saudáveis (Anjo, 2004; Costa e Rosa, 2006). No Brasil, de acordo com a Portaria nº 398 de 30/04/99 da Secretaria de Vigilância Sanitária do Ministério da Saúde, alimento funcional é “aquele que, além das funções nutricionais básicas, quando consumido como parte da dieta usual, produz efeitos metabólicos e/ou fisiológicos e/ou efeitos benéficos à saúde, devendo ser seguro para consumo sem supervisão médica”.

A família Brassicaceae é rica em verduras e hortaliças e tem sido alvo de várias pesquisas devido às propriedades farmacológicas de seus principais metabólitos – os glicosinolatos. Estes metabólitos, assim como seus produtos de hidrólise, os isotiocianatos e nitrilas, são potentes agentes antioxidantes e anticarcinogênicos.

Dentro desse contexto, estão inseridas as espécies *Brassica rapa* L. (nabo), *Eruca sativa* Mill. (rúcula) e *Raphanus sativus* L. (rabanete), amplamente utilizadas na alimentação e objetos de estudo neste trabalho, com o intuito de auxiliar com informações que possam contribuir para o melhor aproveitamento das propriedades medicinais preventivas de seus metabólitos.

1.1 A família Brassicaceae

A família Brassicaceae, de distribuição cosmopolita e considerada uma das principais famílias do ponto de vista econômico, inclui cerca de 400 gêneros e 4.000 espécies. No Brasil ocorrem sete gêneros e aproximadamente 50 espécies (Souza e Lorenzi, 2005).

Através de melhoramento genético são encontradas diversas variedades hortícolas, com destaque para *B. oleracea* var. *acephala* (couve-manteiga), *B. oleracea* var. *capitata* (repolho), *B. oleracea* var. *gemmifera* (couve-de-bruxelas), *B. oleracea* var. *borytis* (couve-flor) e *B. oleracea* var. *italica* (brócolis). Outras espécies de destaque são as mostardas (*Brassica nigra* e *Sinapis* spp.), o rabanete (*Raphanus sativus*), a raiz-forte (*A Armoracia rusticana*), o agrião (*Rorippa nasturtium-aquaticum*) e a rúcula (*Eruca sativa*). Algumas espécies são cultivadas como ornamentais, destacando-se o repolho-ornamental (*B. oleracea* var. *acephala*), o alisso (*Lobularia maritima*) e o mussambê (*Cleome hassleriana*). Muitas Brassicaceae são invasoras de cultura, incluindo-se aqui as mostardas-do-campo (*Brassica rapa*, *Rapistrum rugosum* e *Sinapis arvensis*), a bolsa-de-pastor (*Capsella bursa-pastoris*), o agrião-bravo (*Cardamine bonariensis*), o mastruço (*Coronopus didymus*), o menstruz (*Lepidium* spp.) e a nabiça (*Raphanus raphanistrum*) (Souza e Lorenzi, 2005).

No Brasil, desconsiderando-se as espécies ruderais, a família Brassicaceae é mais comum no Nordeste e no Pantanal, com destaque para o tapiá (*Crateva tapia*) e o iço (*Capparis ico*) (Souza e Lorenzi, 2005).

Gêneros nativos:

Capparis, Cleome, Coronopus, Crateva, Dactylaena, Lepidium, Morisoni.

Gêneros introduzidos:

Alyssum, Aurinia, Brassica, Camelina, Capsella, Cardamine, Cheiranthus, Eruca, Iberis, Lobularia, Lunaria, Matthiolla, Raphanus, Rapistrus, Rorippa (=Nasturtium), Sinapis, Sisymbrium, Thlaspi.

1.2 Glicosinolatos

Os glicosinolatos, um dos maiores grupos de metabólitos especiais contendo enxofre, estão particularmente presentes em vegetais comestíveis. Até o ano de 2004, aproximadamente 120 glicosinolatos foram identificados a partir de espécies de Brassicaceae e outras famílias (Falk *et al.*, 2004). A estrutura química dos glicosinolatos consiste de ésteres de (Z)-N-hidroximinosulfato que possuem um átomo de enxofre ligado a uma parte β -D-glicopiranosose e uma cadeia lateral derivada de um ácido aminado (Fig 1). A estrutura da cadeia lateral R é altamente variável e pode conter substituintes alifáticos (grupos alquila, alquenila, hidroxialquenila, ω -metiltioalquila, ω -sulfinila e ω -sulfinilalquila), aromáticos (benzila, benzila substituída) ou heterocíclica (grupos indólicos), conforme o ácido aminado precursor, ou seja, a metionina ou o triptofano, ou um ácido aminado aromático (tirosina ou fenilalanina) (Figura 1) (Holst e Williamson, 2004; Padilla *et al.*, 2007). A presença do grupo

sulfato na molécula confere propriedades fortemente ácidas aos glicosinolatos. Deste modo, os glicosinolatos não são voláteis e ocorrem como sais (Holst e Williamson, 2004).

A maioria dos glicosinolatos possui cadeia lateral linear ou ramificada. Muitas destas substâncias podem conter, também, ligações duplas (olefínicas), grupos hidroxila ou carbonila ou ligações de enxofre em vários estados de oxidação, sendo este último o maior grupo, compreendendo um terço do total dos glicosinolatos conhecidos, como, por exemplo, metiltioalquilas, metilsulfinil alquilas ou metilsulfonil alquilas. Alguns glicosinolatos contendo o grupamento benzila apresentam ligação glicosídica com o anel aromático, em que a molécula de açúcar pode ser a glicose, a ramnose ou a arabinose (Fahey *et al.*, 2001).

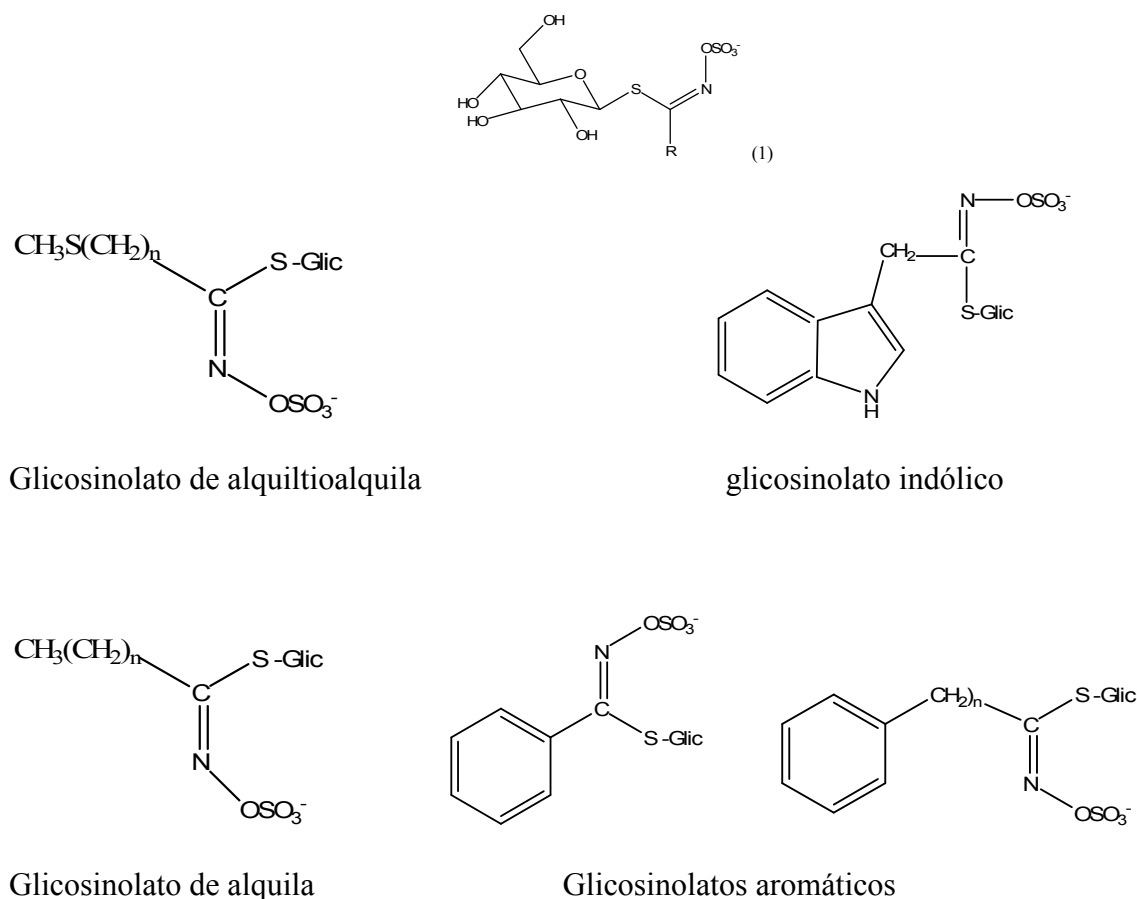


Figura 1. Estrutura básica de um glicosinolato (1) e seus tipos estruturais conforme o ácido aminado de origem (o grupo R representa a cadeia lateral).

Os glicosinolatos exercem diversas funções na planta, como defesa contra patógenos, metabolismo do enxofre e nitrogênio e regulação do crescimento. Também assumem um papel importante na defesa da planta contra os efeitos do estresse gerado por condições climáticas extremas de temperatura e pressão (Blazevic e Mastelic, 2008). Liang *et al.* (2006), observaram que os glicosinolatos indólicos, 4-hidróxiglicobrassicina e 4-metóxiglicobrassicina, presentes em *B. rapa*, têm suas concentrações aumentadas após lesão tecidual, mostrando função de defesa no vegetal frente a agressões.

O brócolis (*Brassica oleracea*), consumido amplamente em várias partes do mundo, contém os glicosinolatos alifáticos glicorafanina e glicoiberina em altas concentrações (Song e Thornalley, 2007).

Em um estudo realizado recentemente por Van Eylen *et al.* (2008) foram identificados, ainda para esta espécie, os glicosinolatos glicobrassicina, 4-metóxiglicobrassicina e neoglicobrassicina (Figura 2).

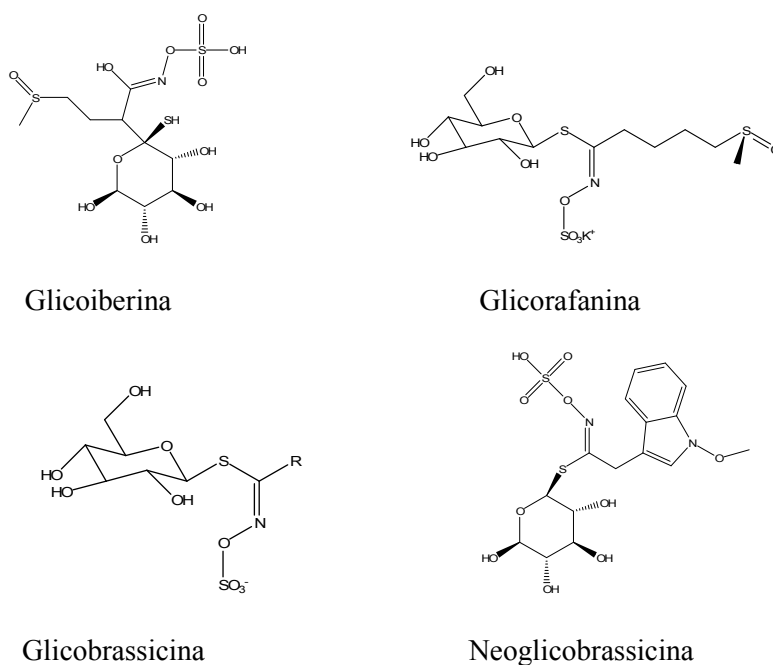


Figura 2. Glicosinolatos encontrados no brócolis.

1.2.1 Histórico

As primeiras observações acerca das propriedades dos glicosinolatos e dos isotiocianatos, foram descritas no início do século XVII como resultado de esforços empreendidos para compreender a origem química do sabor picante das sementes de mostarda (Fahey *et al.*, 2001).

Os glicosinolatos, conhecidos por nomes triviais como sinigrina (glicosinolato de 2-propenila ou de alila) e sinalbina (glicosinolato de 4-hidroxibenzila) (Figura 3) foram isolados pela primeira vez no século XIX, a partir das sementes das mostardas preta (*Brassica nigra*) e branca (*Sinapis alba*), respectivamente. Gadamer, em 1897, propôs pela primeira vez a estrutura geral para estas substâncias, onde a cadeia lateral encontrava-se ligada ao átomo nitrogênio ao invés do carbono no grupo isotiocianato (NCS). Apesar de algumas dificuldades, a estrutura básica foi corrigida em 1956, quando Ettlinger e Lundeen apontaram as inadequações da estrutura de Gadamer para explicar algumas propriedades destas substâncias. Os autores propuseram a estrutura atual e descreveram a síntese química dos glicosinolatos. O problema estrutural restante da isomeria geométrica da ligação C=N foi estabelecida como *Z* (ou anti-) por análise cristalográfica por raio-X da sinigrina (Fahey *et al.*, 2001).



Figura 3: Glicosinolato de 2-propenila ou de alila (sinigrina) e glicosinolato de 4-hidróxibenzila (sinalbina).

1.2.2 Biossíntese

De um modo geral, a síntese da estrutura básica dos glicosinolatos (Figura 4) inicia-se com a conversão de um ácido aminado em uma aldoxima, via oxidação e conjugação com uma cisteína formando um tioidroximato de S-alquila. Após a reação de hidrólise é gerado o ácido tioidroxímico, que após glicosilação e posterior sulfatação, forma o glicosinolato (Nafisi *et al.*, 2006).

A primeira etapa da biossíntese ocorre quando o ácido aminado precursor é convertido na aldoxima correspondente, catalisada pela isoenzima CYP79 (pertencente à família P450), que também catalisa a reação na via biossintética dos glicosídeos cianogênicos (Nafisi *et al.*, 2006).

Verificou-se que a isoforma CYP79A2 converte a fenilalanina à sua aldoxima correspondente, enquanto CYP79B2 e CYP79B3 catalisam a conversão do triptofano a indol-3-acetaldoxima. Já as isoformas CYP79F1 e CYP79F2 convertem os derivados da metionina as aldoximas correspondentes. Contudo, as preferências dos derivados diferem no fato de que CYP79F2 metaboliza, exclusivamente, os derivados de cadeia longa a partir da metionina (penta e hexametionina), enquanto que a CYP79F1 gera derivados de cadeias curta e longa (Nafisi *et al.*, 2006). A oxidação da aldoxima ocorre por outra subfamília da citocromo P450, as isoformas CYP83A1 e CYP83B1 (Nafisi *et al.*, 2006).

As pesquisas focalizam, principalmente, o estágio do alongamento da cadeia do ácido aminado, pois a extensão da cadeia exerce uma influência significativa na função de resistência a insetos e na atividade anticancerígena dos glicosinolatos (Falk *et al.*, 2007).

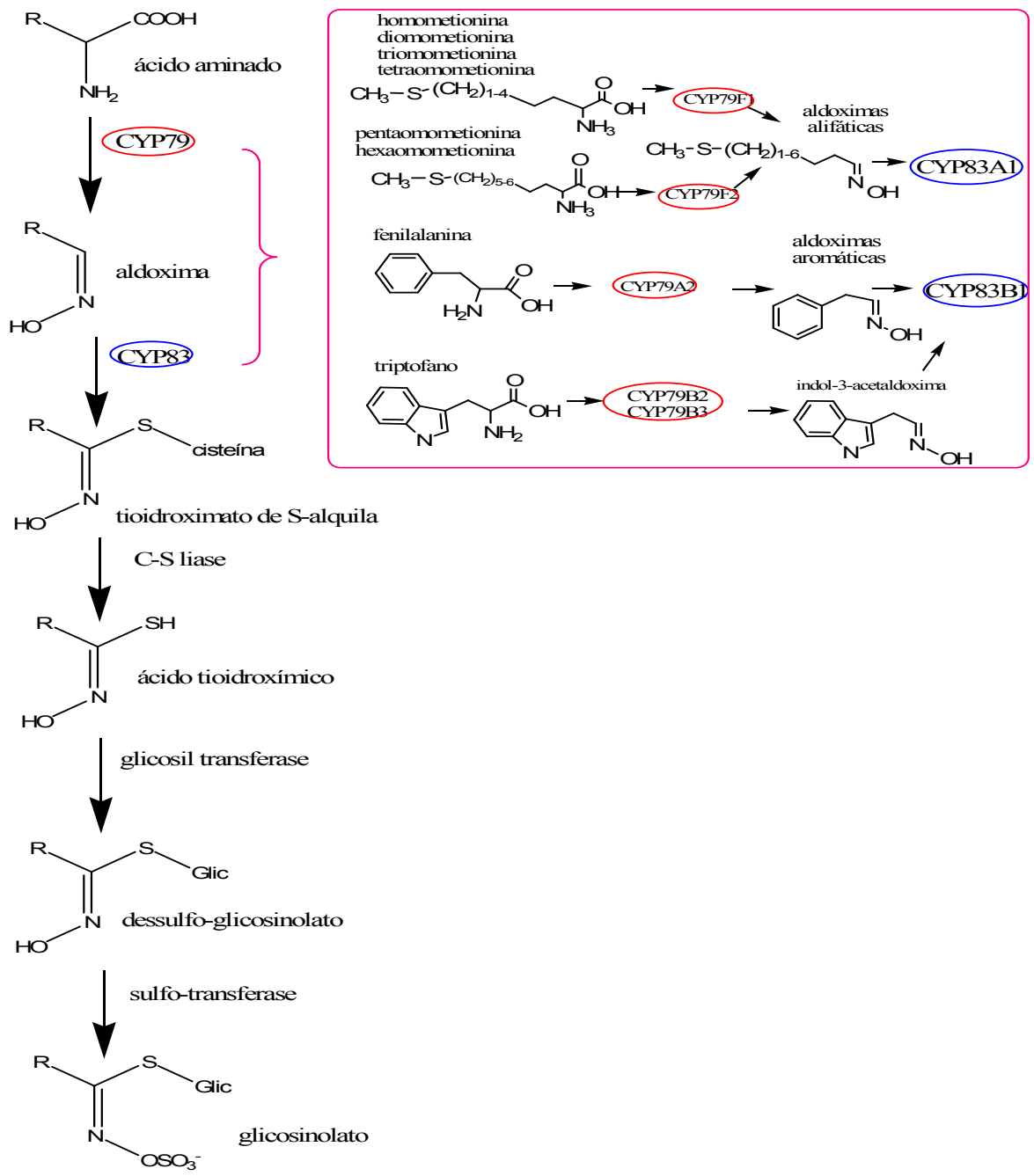


Figura 4: Biossíntese dos glicosinolatos: os glicosinolatos são sintetizados a partir de ácidos aminados por isoenzimas do sistema citocromo-P450, uma C-S liase, uma glicosil-transferase e uma sulfo-transferase.

1.2.3 Produtos da hidrólise dos glicosinolatos

Os glicosinolatos são armazenados em vacúolos de células vegetais (Figura 5); com a lesão do tecido vegetal e a exposição da mirosinase ou tioglicosidase, enzima encontrada em plantas que contêm glicosinolatos, estes são hidrolisados formando isotiocianatos e outros produtos (Holst e Williamson, 2004).

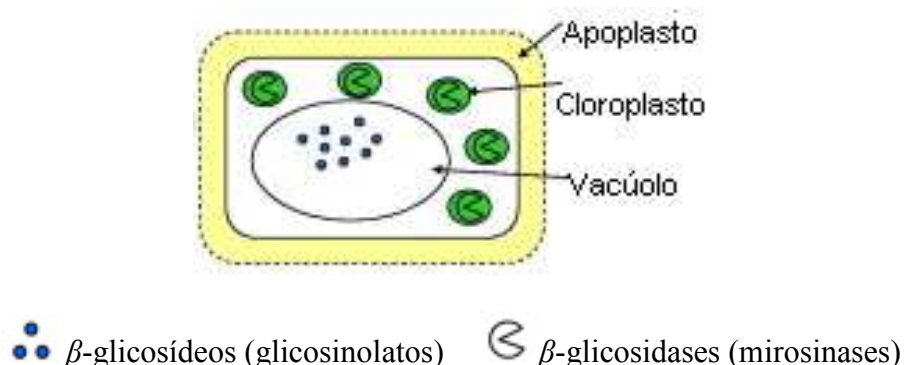


Figura 5: Compartimentalização de β -glicosidases e seu substrato, os glicosinolatos.

Tais derivados têm despertado um grande interesse pela sua importância na resistência de plantas contra herbívoros (pragas) e patógenos, no sabor e aroma dos vegetais crucíferos, como couve e brócolis e na qualidade do óleo de sementes de colza além de outras sementes utilizadas em ração animal (Falk *et al.*, 2004). O contato do glicosinolato com a enzima leva à hidrólise da ligação tioglicosídica, liberando glicose e uma aglicona instável, a tioidroximato-*O*-sulfonato. Na etapa seguinte, ocorre um rearranjo espontâneo do tipo de Lossen (Figura 6), gerando isotiocianatos, nitrilas, tiocianatos, epitionitrilas, oxazolidinas-2-tionas e/ou substâncias indólicas (Figura 7). A estrutura química do produto resultante depende da cadeia lateral e das condições reacionais (Holst e Williamson, 2004).

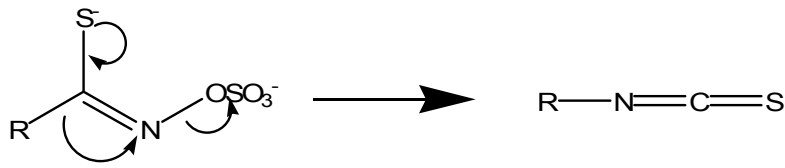


Figura 6: Rearranjo de Lossen para formação de isotiocianatos.

Na faixa de pH 6 a 7, os principais produtos de hidrólise são isotiocianatos estáveis, exceto para os glicosinolatos que possuem uma cadeia lateral β -hidroxilada ou uma parte indólica; isotiocianatos β -indólicos são instáveis e ciclizam espontaneamente a oxazolidina-2-tionas (ex.: goitrina). O álcool resultante, indol-3-carbinol, é formado com condensações subsequentes a dímeros, trímeros e tetrâmeros. Na presença de ácido ascórbico, os tiocianatos são os principais produtos formados em pH compreendido entre 4 e 7. Em algumas variedades vegetais, a autólise em material fresco produz nitrilas (Holst e Williamson, 2004).

As nitrilas constituem os principais produtos da hidrólise em condições ácidas. As epitionitrilas são formadas na presença da proteína epitioespecífica (ESP - uma proteína de baixo peso molecular ausente em algumas espécies da família Brassicaceae) e de íons Fe^{+2} , a partir de glicosinolatos contendo cadeias laterais com ligações não-saturadas terminais. Na ausência desta proteína, a presença dos íons Fe^{+2} promove a formação de nitrilas (Holst e Williamson, 2004).

Muitos fatores endógenos modificam a hidrólise dos glicosinolatos por afetar a atividade da mirosinase e a formação dos produtos ou a atividade da ESP. Deste modo, concentrações baixas de ácido ascórbico aumentam a atividade da mirosinase em algumas espécies, porém, concentrações elevadas são inibitórias (Holst e Williamson, 2004).

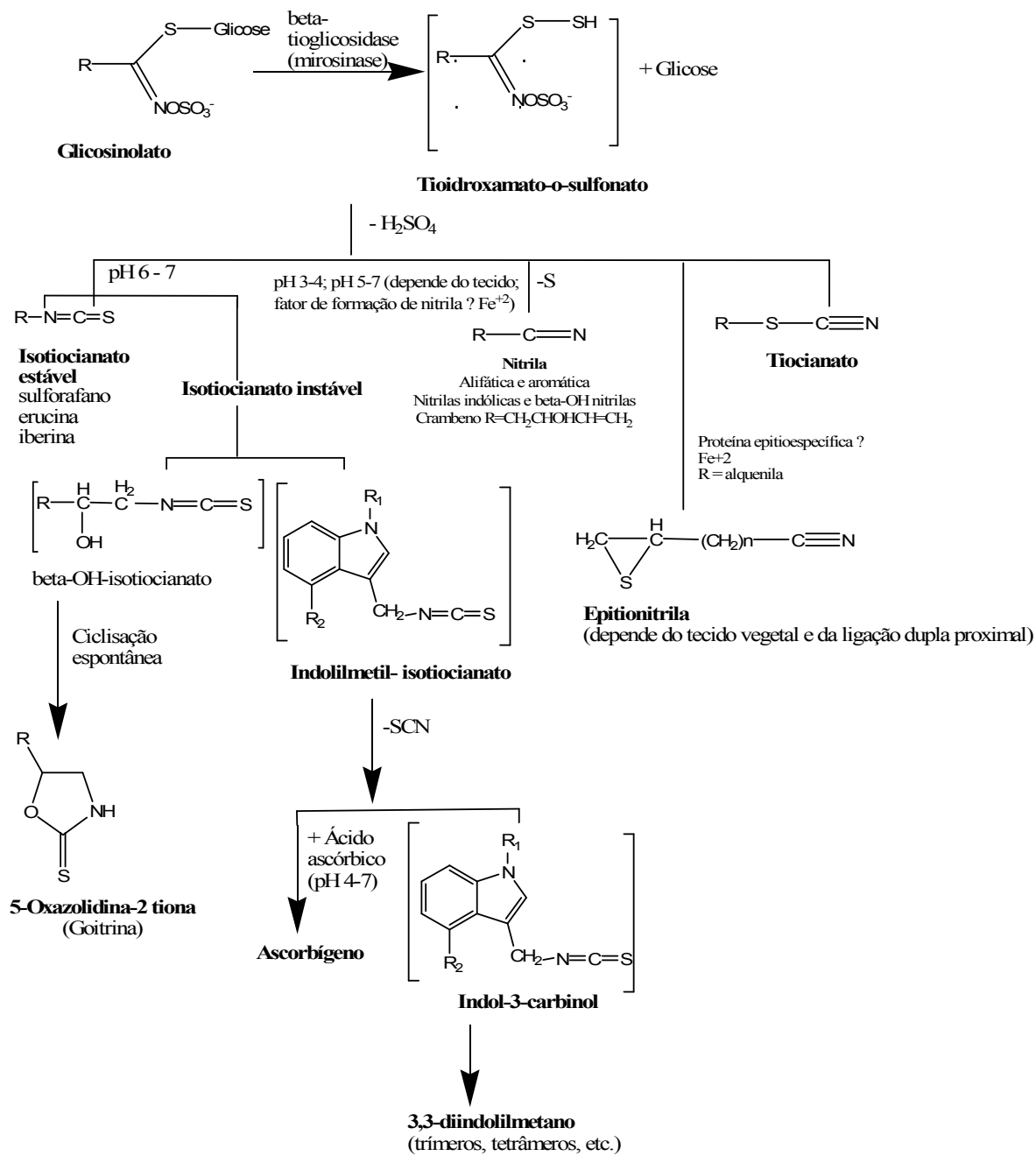


Figura 7: Hidrólise enzimática de glicosinolatos e seus diferentes produtos (Holst e Williamsom, 2004).

1.2.4 Identificação de derivados de glicosinolatos

Os componentes voláteis de plantas são grupos heterogêneos de substâncias orgânicas que incluem, principalmente, monoterpenos, sesquiterpenos, diterpenos, aldeídos, cetonas, além de outros metabólitos com pesos moleculares e grupos funcionais diferentes.

A família Brassicaceae, de forma característica, apresenta em sua composição de voláteis produtos de degradação de glicosinolatos, como isotiocianatos, cianetos orgânicos, epitionitrilas, oxazolidinas e tiocianatos. Estas substâncias conferem as características sensoriais peculiares aos vegetais que os contêm e que os tornam tão apreciados em todo o mundo. Tais derivados já foram detectados em diversas pesquisas em que se utilizaram, como métodos de extração, a hidrodestilação (Mastelic *et al.*, 2008) e a microextração em fase sólida (SPME) (Jirovetz *et al.*, 2002).

A hidrodestilação é um dos métodos mais frequentemente empregados para a extração de isotiocianatos e outros derivados dos glicosinolatos (Mastelic *et al.*, 2008).

Nos trabalhos de Hashimoto e Kameoka (1985), Mastelic *et al.* (2008) e Blazevic e Mastelic (2008) foram extraídas substâncias voláteis de sementes e folhas de rúcula, rabanete e diversas outras espécies da família Brassicaceae por hidrodestilação e identificadas por CG e CG/EM.

Exemplos de derivados de glicosinolatos encontrados na couve-flor, nabo, mostarda e rabanete, identificados por cromatografia em fase gasosa acoplada à espectrometria de massas (Wallbank e Wheatley, 1976) encontram-se representados na Figura 8, a seguir.

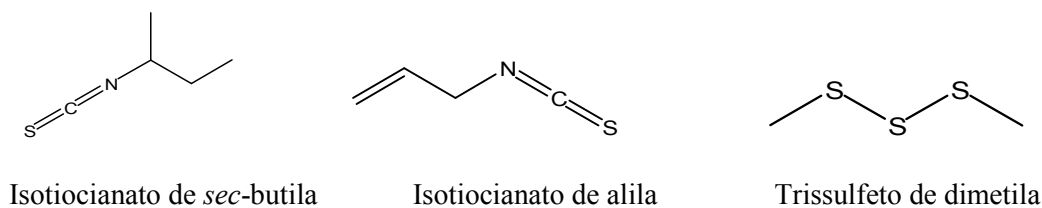


Figura 8: Derivados de glicosinolatos detectados em couve-flor, nabo, mostarda e rabanete.

1.2.5 Influência do processamento no teor de glicosinolatos e produtos de hidrólise em Brassicaceae

O conteúdo de glicosinolatos nos vegetais pode ser influenciado pela forma de armazenamento. Em pesquisa realizada recentemente, foi avaliada a variabilidade no teor de glicosinolatos do brócolis em função da temperatura de armazenamento. Não foram verificadas perdas significativas no conteúdo de glicosinolatos do vegetal íntegro armazenado sob refrigeração por um período de sete dias. Os glicosinolatos indólicos mostraram-se mais sensíveis à refrigeração do que os alifáticos e os aromáticos. A refrigeração a 4°C e o congelamento foram descritos como as melhores condições de armazenamento para a manutenção dos teores de glicosinolatos no brócolis (Song e Thornalley, 2007). Os autores verificaram que os vegetais finamente picados apresentaram redução drástica do conteúdo de glicosinolatos, principalmente após um período de aproximadamente uma hora.

Sabe-se que para a mirosinase hidrolisar os glicosinolatos é necessário a ruptura do tecido vegetal, que pode se dar por mastigação ou corte. Entretanto, antes do consumo, os vegetais são comumente cozidos, podendo acarretar em inativação da enzima e, conseqüentemente, no comprometimento da produção dos derivados de hidrólise. O cozimento sob vapor mostrou uma maior preservação do teor de glicosinolatos e um decréscimo nos níveis de sulforafano no brócolis, devido à inativação da enzima mirosinase e

estabilização da glicorafanina durante a hidrólise. Se o cozimento a vapor ultrapassar o tempo de 45 minutos, pode haver lixiviação, porém, em menor grau do que na fervura em água (Song e Thornalley, 2007).

Van Eylen *et al.* (2008) verificaram que a pressão alta exerceu um efeito positivo sobre o potencial benéfico do brócolis, uma vez que uma quantidade maior de glicosinolatos foi hidrolisada a isotiocianatos. Durante a autólise, o principal produto do glicosinolato de indol-3-il-metila, o ascorbígeno, foi formado. O ascorbígeno é o produto da hidrólise de glicosinolatos indólicos gerado na presença do ácido ascórbico em pH de 4 a 7 (Holst e Williamson, 2004).

O processamento exerce influência no tipo de produto gerado, representando uma grande relevância no que tange à relação entre a natureza dos produtos da hidrólise dos glicosinolatos e os benefícios proporcionados (Van Eylen *et al.*, 2008).

1.2.6 Aspectos quimiotaxonômicos, distribuição e evolução de glicosinolatos

A natureza e a diversidade dos glicosinolatos dentro das 16 famílias de dicotiledôneas é totalmente diferente. Estudos químicos e morfológicos sugerem que todos os *taxa* contêm glicosinolatos, com exceção do gênero *Drypetes*, que pertence à família Euphorbiaceae. Todas as famílias contêm, pelo menos, um gênero com glicosinolatos do tipo benzila ou hidroxibenzila derivados de fenilalanina e/ou tirosina. Estas famílias, provavelmente, contêm também glicosinolatos de cadeia ramificada, derivados dos ácidos aminados valina e leucina, embora faltem dados para diversos *taxa*. Os glicosinolatos formados a partir do alongamento da cadeia de fenilalanina são encontrados apenas em Resedaceae, Capparaceae e Brassicaceae e os biossintetizados a partir do alongamento da cadeia de metionina (que compreende

aproximadamente um terço de todos os glicosinolatos conhecidos) são encontrados apenas em Brassicaceae, embora um pequeno número possa ocorrer em Capparaceae (Mithen, 2001).

De fato, a capacidade de biossíntese de glicosinolatos vem sendo usada como marcador taxonômico para respaldar aspectos evolutivos baseados em esquemas de classificação. Os glicosinolatos com o substituinte R glicosilado parecem restritos às famílias Resedaceae e Moringaceae (Fahey *et al.*, 2001).

Muitos aspectos da bioquímica dos glicosinolatos sugerem uma relação evolutiva com glicosídeos cianogênicos. Ambas as classes de metabólitos secundários derivam de ácidos aminados similares e apresentam oximas como intermediários. Os glicosídeos cianogênicos ocorrem largamente em plantas com flores e em muitas plantas estéreis (sem flores), sugerindo uma origem evolucionária remota. Em contrapartida, os glicosinolatos têm uma ocorrência restrita em um número relativamente pequeno de famílias vegetais. Sugere-se que os glicosinolatos possam ter surgido a partir de uma modificação da oxima formada como um intermediário na biossíntese dos glicosídeos cianogênicos (Mithen, 2001). Em Brassicaceae eles são os principais metabólitos encontrados, sendo considerados marcadores quimiotaxonômicos da família.

1.2.7 Metabolismo dos glicosinolatos em mamíferos

A compreensão da biodisponibilidade, transporte e metabolismo de glicosinolatos após o consumo de crucíferas é um pré-requisito para o entendimento de seu mecanismo protetor em humanos. “Biodisponibilidade” de um nutriente corresponde à fração do nutriente ingerido usado para prover necessidades funcionais em tecidos-alvo (Moreno, 2006).

Nos últimos anos, tem-se dispensado muita atenção aos benefícios potenciais dos produtos de degradação dos glicosinolatos. Vegetais crucíferos crus geram isotiocianatos e

nitrilas, enquanto que os glicosinolatos nos vegetais cozidos, com a mirosinase termicamente inativada, são degradados a isotiocianatos pela microbiota intestinal. Poucos trabalhos têm sido desenvolvidos sobre as enzimas degradativas da microbiota intestinal, porém, mais recentemente, muitos grupos identificaram espécies bacterianas associadas à degradação de glicosinolatos. A formação de isotiocianato de alila, no trato digestivo de ratos associados às espécies colônicas humanas de *Bacteroides thetaiotaomicron*, tem mostrado que uma mirosinase bacteriana está envolvida. Três espécies de *Bifidobacterium* (*B. pseudocatenulatum*, *B. adolescentis* e *B. longum*) estão envolvidas na degradação digestiva de glicosinolatos no trato intestinal humano (Bones e Rossiter, 2006).

Glicosinolatos degradados pela mirosinase vegetal no intestino delgado ou por mirosinase bacteriana no cólon têm seus metabólitos detectáveis na urina humana de duas a três horas após o consumo de crucíferas. A biodisponibilidade de brócolis fresco é aproximadamente três vezes maior do que a do brócolis cozido, onde a mirosinase é inativada, demonstrando que o cozimento pode reduzir, consideravelmente, os benefícios à saúde que os vegetais proporcionam (Moreno, 2006).

As propriedades antinutricionais da degradação de glicosinolatos são bem documentadas para goitrina e o tiocianato, como agentes goitrogênicos. A goitrina é derivada de uma ciclização intramolecular do isotiocianato de 3-buteno-2-ol e é inibidora da enzima tireóide peroxidase. A goitrina inibe a oxidação do iodeto a iodo interferindo na biossíntese das tiroxinas T₃ e T₄. Os ânions tiocianato agem como inibidores competitivos de iodeto, impedindo a absorção pela tireóide. Além destes efeitos na tireóide, foi mostrado que a goitrina pode induzir a formação de constituintes nitrosos, com implicações na saúde humana, onde as concentrações de nitrato na água são elevadas (Bones e Rossiter, 2006).

1.2.8 Atividade biológica dos glicosinolatos e derivados

Para que se possa fornecer informação adequada ao consumidor, na escolha da sua alimentação para melhor usufruir os benefícios dos alimentos funcionais, é necessário conhecer a variação no conteúdo dos componentes bioativos dos vegetais. Tal variação pode estar relacionada à regulação genética (é de conhecimento que fatores bióticos e abióticos influenciam na expressão de metabólitos de plantas) ou de diferenças na manipulação pós-colheita, processamento, armazenamento ou preparação do alimento (Jeffery *et al.*, 2003). Vários trabalhos têm mostrado a variabilidade de glicosinolatos em função de uma série de parâmetros, conforme já mencionado anteriormente, e a importância dessas alterações nas suas propriedades farmacológicas, particularmente no que se refere às propriedades antioxidantes e anti-carcinogênicas (Song e Thornalley 2007; del Aguila *et al.*, 2006).

Os glicosinolatos e os metabólitos derivados de sua hidrólise exercem uma variedade muito ampla de atividades biológicas em plantas, animais e seres humanos, desde a participação no meio agrícola, como defensivos contra patógenos e herbívoros em plantas à prevenção do câncer em humanos (Sivakumar *et al.*, 2007). Alguns destes componentes possuem efeito quimiopreventivo relacionado à redução do risco de certos tipos de câncer em humanos. Estudos *in vivo* e *in vitro* mostraram que os isotiocianatos afetam vários estágios do desenvolvimento de câncer. O sulforafano, um isotiocianato derivado da glicorafanina e presente em altas concentrações no brócolis, inibiu o câncer de mama em ratas (Padilla *et al.*, 2007). Outros isotiocianatos derivados de outras espécies da família Brassicaceae também mostraram exercer funções biológicas comparáveis incluindo modulação de enzimas de destoxificação de fase I e fase II.

A maioria dos glicosinolatos não é, de forma direta, biologicamente ativa, mas seus produtos de hidrólise são potencialmente anticarcinogênicos. Os isotiocianatos inibem a

geração de superóxido oxidase (um precursor de espécies reativas de oxigênio) e suprime a produção de óxido nítrico (um precursor de espécies reativas de nitrogênio). O sulforafano, por exemplo, é reconhecido como um indutor potente da enzima de destoxificação quinona-reductase em células de hepatoma e mostrou prevenir o câncer de mama em roedores. O indol-3-carbinol, outro produto da hidrólise do glicosinolato glicobrassicina, mostrou resultados promissores contra o câncer de mama em pesquisa realizada no Instituto Nacional do Câncer (EUA) (Talalay *et al.*, 1995; Jeffery *et al.*, 2003; Ippoushi *et al.*, 2007).

A glicoerucina, o glicosinolato presente em maior concentração nas sementes de rúcula ($108 \pm 5 \mu\text{mol/g}$ em peso seco) e presente em outras espécies de Brassicaceae, possui boa atividade antioxidante direta e indireta e, juntamente com o seu metabólito erucina, decompõe, efetivamente, o peróxido de hidrogênio e hidroperóxidos de alquila, agindo, desta forma, como agente antioxidante direto preventivo por seqüestro de peróxido (Barillari *et al.*, 2005).

Conforme já mostrado anteriormente, isotiocianatos são caracterizados pela presença do grupo isotiocianato ($-\text{N}=\text{C}=\text{S}$), cujo carbono central é altamente eletrofílico. Sabe-se que as atividades protetoras dos isotiocianatos, bem como seus possíveis efeitos tóxicos, podem ser mediados, primeiramente, pela reação deste carbono com alvos celulares nucleofílicos. As cadeias laterais dos isotiocianatos podem exercer papéis secundários, como afetar a eletrofilicidade do grupo isotiocianato, promovendo o impedimento estérico ao átomo de carbono central e controlando a lipofilicidade da molécula. A dessulfuração oxidativa dos isotiocianatos para isocianatos ($-\text{N}=\text{C}=\text{O}$) pode ser conduzida pelas enzimas do citocromo P450. Os isocianatos também são eletrófilos reativos e podem desempenhar reações similares com nucleófilos celulares. Entretanto, tanto as reações dos isotiocianatos como as dos isocianatos com nucleófilos contendo enxofre (grupos $-\text{SH}$ de moléculas celulares), podem constituir a base química mais importante de suas ações biológicas (Zhang *et al.*, 2005).

Estudos epidemiológicos em humanos e em animais mostraram que a dieta rica em vegetais crucíferos resulta em redução da incidência de diversos tipos de câncer, especialmente de pulmão, cólon, mama, ovário e próstata. Além disso, os isotiocianatos estão associados à redução do risco de câncer de bexiga. Este tipo de câncer é diagnosticado em aproximadamente 336.000 pessoas a cada ano em todo o mundo, onde os homens são três vezes mais propensos a desenvolvê-lo do que as mulheres, de acordo com a *European School of Oncology* (2008). Um estudo realizado pela Anderson Cancer Center, da Universidade do Texas (E.U.A.) revelou que o aumento da ingestão de vegetais crucíferos está associado à redução de 30% do risco de câncer de bexiga (Tang *et al.*, 2008).

Mais de duzentos estudos epidemiológicos foram realizados em todo o mundo para investigar o papel das hortaliças no risco de desenvolvimento de câncer. Na maior parte destes estudos, o consumo de uma variedade ampla de hortaliças foi um denominador comum nos grupos considerados de baixo risco. Baseado nestes estudos, o *American Institute of Câncer Research* (AICR) passou a recomendar o consumo de hortaliças e frutas variadas, preferencialmente cruas, para reduzir de 60% a 70% o risco de desenvolver alguma forma de câncer (AICR, 2006).

1.2.9 Ação antioxidante

O estresse oxidativo ocorre quando a geração de ERO (espécies reativas de oxigênio) em um sistema excede a capacidade deste sistema de neutralizá-los e eliminá-los. O desequilíbrio pode resultar em uma deficiência da capacidade antioxidante causada pela perturbação na produção, distribuição ou pela superabundância de ERO desencadeado por um agente estressante ambiental ou comportamental. Se não for devidamente controlado, o excesso de ERO pode levar a dano de lipídeos, proteínas e DNA celulares, prejudicando suas funções

normais. O organismo se defende contra as ERO ativando diversos sistemas enzimáticos e antioxidantes endógenos (Lotito e Frei, 2004). Estas espécies radicalares são moléculas oxigenadas produzidas no organismo por diversos fatores tais como: consumo de cigarro, exposição a raios X, poluentes do ar, luz solar, estresse emocional e ainda como subprodutos de nosso metabolismo (Craveiro e Craveiro, 2003).

O processo de formação de radicais livres no organismo não pode ser completamente evitado, pois é ativado de forma freqüente através das funções normais do nosso metabolismo. A atividade destrutiva dos radicais livres deve-se, principalmente, ao fato desses constituintes possuírem um ou mais elétrons não emparelhados, tornando-os instáveis e, conseqüentemente, muito reativos. A ação dos radicais livres no organismo é cumulativa e em cadeia, ou seja, um radical livre atua sobre uma determinada molécula, roubando-lhe um elétron; tal molécula se torna reativa, atacando outra e assim sucessivamente, formando uma reação em cadeia que pode se repetir milhões de vezes em um único dia (Craveiro e Craveiro, 2003).

Os “alvos” preferidos de ataque destes radicais são células ou tecidos saudáveis do nosso organismo. Diversas doenças ou respostas biológicas desfavoráveis estão ligadas à presença de radicais livres ou a outras espécies oxigenadas reativas, dentre essas: câncer, problemas cardiovasculares/aterosclerose, isquemia do miocárdio, catarata, esclerose múltipla, desordens neurológicas, artrite, envelhecimento e asma (Perry *et al.*, 2000; Craveiro e Craveiro, 2003).

As células cancerosas, particularmente as metastásicas, requerem um certo nível de estresse oxidativo para manter um balanço entre o desenvolvimento de sua proliferação e a apoptose. Elas geram uma quantidade elevada, porém tolerável, de H_2O_2 , que aparentemente funcionam como moléculas sinalizadoras na via da proteína-cinase mitógena para ativar, constantemente, os fatores de transcrição redox-sensitivos e genes responsivos, que estão envolvidos na sobrevivência das células cancerosas e na manutenção de sua proliferação. Se o

excesso de H_2O_2 for sequestrado, por exemplo, por substâncias fenólicas e isotiocianatos, exercendo uma ação antioxidante, os genes responsivos do estresse oxidativo podem ser suprimidos e, conseqüentemente, a proliferação das células cancerígenas inibida (Figura 9) (Loo, 2003).

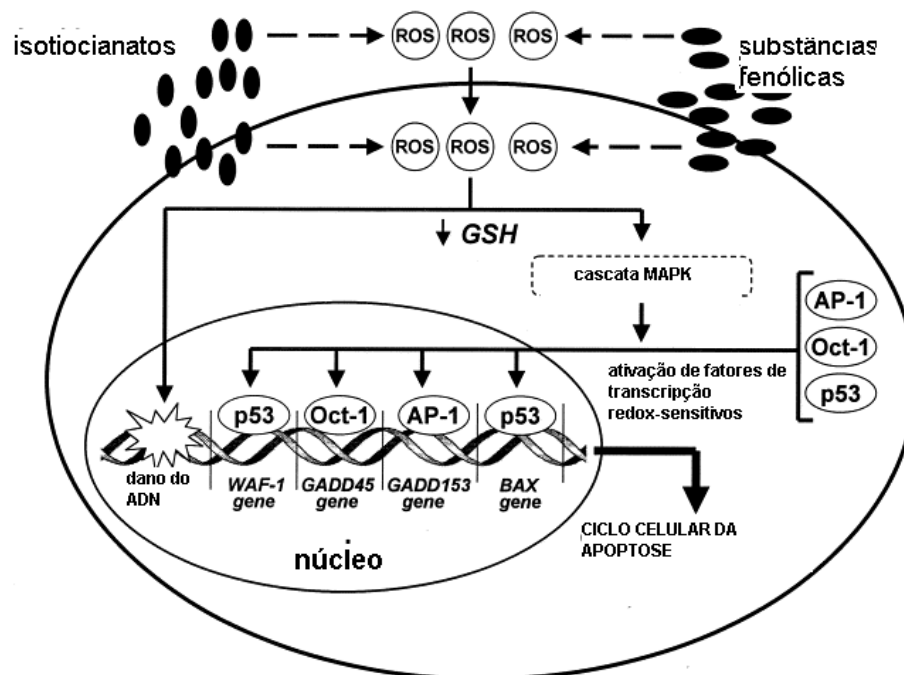


Figura 9: Mecanismo da inibição da proliferação de células cancerosas por substâncias fenólicas e isotiocianatos.

Os agentes antioxidantes compreendem uma família ampla e heterogênea, que assume a função de intervenção, seja ao parar, retardar ou prevenir a oxidação de um substrato. Em um ambiente biológico, como um organismo vivo, o processo de auto-oxidação mais relevante é a peroxidação lipídica, que consiste em uma reação em cadeia:

Iniciação: $HOOH$ (ou $ROOH$) \rightarrow $HO\cdot$ (ou $RO\cdot$)

$HO\cdot$ (ou $RO\cdot$) + LH \rightarrow HOH (ou ROH) + $L\cdot$

Propagação: $L\cdot$ + O_2 \rightarrow $LOO\cdot$

$LOO\cdot$ + LH \rightarrow $LOOH$ + $L\cdot$

Término: $\text{LOO}\cdot + \text{LOO}\cdot \rightarrow \text{produtos moleculares}$

Neste esquema simples, LH representa uma molécula lipídica e $\text{L}\cdot$ é o radical gerado pela abstração de um átomo de hidrogênio (Barillari *et al.*, 2005).

Os antioxidantes podem ser classificados, com base em seu mecanismo de interferência no processo de oxidação, como antioxidantes preventivos ou por rompimentos da cadeia. Os primeiros interferem, principalmente, na etapa da iniciação, retardando ou parando a formação de espécies radicalares. O α -tocoferol, ascorbato e flavonóides, chamados antioxidantes por rompimento de cadeia, promovem o bloqueio ou o retardo da auto-oxidação por competição nas reações de propagação. É o que ocorre quando estas substâncias reagem com radicais peroxila mais rapidamente do que o substrato oxidável (normalmente, ácidos graxos poliinsaturados de membranas biológicas) para formar espécies que não propagam a cadeia da oxidação. Além disso, outras substâncias que não possuem atividade antioxidante relevante *in vitro* podem estimular e aumentar a eficácia de defesas antioxidantes *in vivo*, sendo normalmente classificados como antioxidantes indiretos (Barillari *et al.*, 2005).

Os vegetais da família Brassicaceae possuem atividades antioxidante e anticarcinogênica conhecidas. Além das vitaminas antioxidantes, carotenóides e polifenóis, estes vegetais contêm uma variedade ampla de glicosinolatos, onde a maioria possui atividade antioxidante. A variação do conteúdo de agentes antioxidantes em vegetais brássicos é causado por fatores como variedade, maturidade quando da colheita, condições de cultivo, estado do solo e condições de armazenamento pós-colheita. O processamento industrial, como branqueamento, apertização, esterilização e congelamento, bem como o cozimento doméstico, constituem condições muito importantes para afetar o conteúdo, a composição, a atividade e a biodisponibilidade de agentes antioxidantes (vitaminas, polifenóis, glicosinolatos e seus derivados). Geralmente, a concentração destes agentes antioxidantes em vegetais processados

é menor do que em vegetais *in natura* devido à degradação pelo corte, que favorece reações enzimáticas de degradação com produção de derivados voláteis. No cozimento em água fervente, onde ocorre diluição dos componentes vegetais, diminuindo seu conteúdo por peso unitário (Podsdek, 2007).

Lamy *et al.* (2008) verificaram que o tratamento de células tumorais do epitélio ovariano, geradas por espécies reativas de oxigênio, com os isotiocianatos de 4-(metiltio)-butila e de benzila induziu à morte por apoptose via rompimento da membrana mitocondrial.

A nitrila crambeno (Figura 10), também dotada de atividade biológica, é um produto da hidrólise da progoitrina, encontrada na espécie da família Brassicaceae *Crambe abyssinica* (crambe). Quando incluída na alimentação de animais, mostrou induzir as enzimas hepáticas quinona-redutase (QR) e glutatona S-transferase (GST), desempenhando um papel fundamental na prevenção do câncer pela ingestão habitual de vegetais crucíferos. Estudos com crambeno mostraram que seu efeito não está limitado à indução de enzimas de detoxificação de fase II. Resultados apresentados mostraram que o crambeno causa a elevação de glutatona por melhorar a síntese da enzima, uma propriedade que compartilha com diversos isotiocianatos, inclusive o sulforafano, tornando a nitrila funcionalmente similar ao isotiocianato (Nho e Jeffery, 2004).

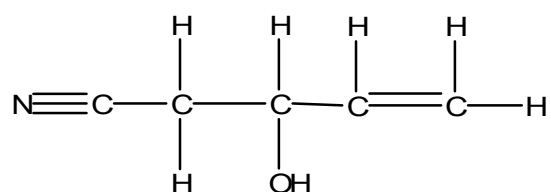


Figura 10: Crambano (1-ciano 2-hidróxi 3-butenos)

O indol 3-carbinol (Figura 11), após exposição ao meio ácido do estômago, produz vários dímeros, trímeros, tetrâmeros e oligômeros, por reações de condensação. Tanto indol-3-carbinol quanto seus produtos de condensação (oligômeros) são conhecidos por terem

propriedades anticancerígenas, possivelmente por indução de enzimas de fase I, dependentes de citocromo P450, quanto de enzimas de destoxificação de fase II. O mecanismo de indução enzimática do indol-3-carbinol e seus oligômeros envolve ligação com o receptor Ah, responsável pela síntese protéica. O complexo ligante-receptor Ah ativa a expressão do gen e a síntese enzimática (Nho e Jeffery, 2004).

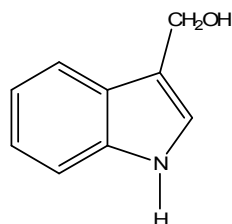


Figura 11: Indol-3-carbinol (I3C)

Os autores sugeriram que uma mistura natural dos produtos de hidrólise dos glicosinolatos pode ser mais potente do que tais componentes purificados administrados individualmente, devido ao sinergismo entre as atividades do indol-3-carbinol e o crambeno.

As substâncias fenólicas de plantas enquadram-se em diversas categorias, como fenóis simples, ácidos fenólicos (derivados de ácidos benzóico e cinâmico), cumarinas, flavonóides, estilbenos, taninos condensados e hidrolisáveis, lignanas e ligninas. A atividade antioxidante de substâncias fenólicas deve-se, principalmente, às suas propriedades redutoras e estrutura química. Sabe-se que o decréscimo da glicosilação afeta significativamente as propriedades antioxidantes de certas moléculas. Por exemplo, as agliconas da quercetina e miricetina são mais reativas do que seus glicosídeos relativos (De Pascale *et al.*, 2007). As substâncias fenólicas desempenham um papel importante na neutralização ou seqüestro de radicais livres e quelação de metais de transição, agindo tanto na etapa de iniciação como na propagação do processo oxidativo. Os intermediários formados pela ação de antioxidantes fenólicos são relativamente estáveis, devido à ressonância do anel aromático presente na estrutura destas substâncias (Sousa *et al.*, 2007).

O conteúdo de substâncias fenólicas em plantas depende de: determinantes genéticos; condições ambientais, como temperatura, luz, disponibilidade de água e nutriente; práticas agrícolas, data da colheita; e condições pós-colheita (De Pascale *et al.*, 2007).

A quantificação espectrofotométrica de substâncias fenólicas é realizada por meio de uma variedade de técnicas, todavia, a que utiliza o reagente de Folin-Ciocalteu figura entre as mais extensivamente utilizadas. O reagente consiste de mistura dos ácidos fosfomolibdídico e fosfotungstênico, no qual o molibdênio e o tungstênio encontram-se no estado de oxidação 6^+ , porém, em presença de certos agentes redutores, como as substâncias fenólicas, formam-se os chamados molibdênio azul e tungstênio azul, nos quais a média dos estados de oxidação dos metais está entre 5 e 6 e cuja coloração permite a determinação da concentração das substâncias redutoras, que não necessariamente precisam ter natureza fenólica (Sousa *et al.*, 2007).

O seqüestro de radicais livres é um dos mecanismos reconhecidos pelo qual ocorre a oxidação dos antioxidantes. O método de seqüestro do radical 2,2-difenil-1-picril-hidrazila (DPPH•) pode ser utilizado para avaliar a atividade antioxidante de substâncias específicas ou de um extrato em período de tempo relativamente curto (Borguini, 2006) e consiste no descoramento por seqüestro do radical DPPH•, estável a temperatura ambiente e de coloração violeta em solução etanólica ou metanólica. Ao reagir com um antioxidante, produz a α - α -difenil- β -picril hidrazina, que é incolor. A extensão do descoramento, medida em espectrofotômetro a 518 nm, indica a taxa de DPPH reduzido (Figura 12) (Mensor *et al.*, 2001; Sarwar Alam *et al.*, 2007).

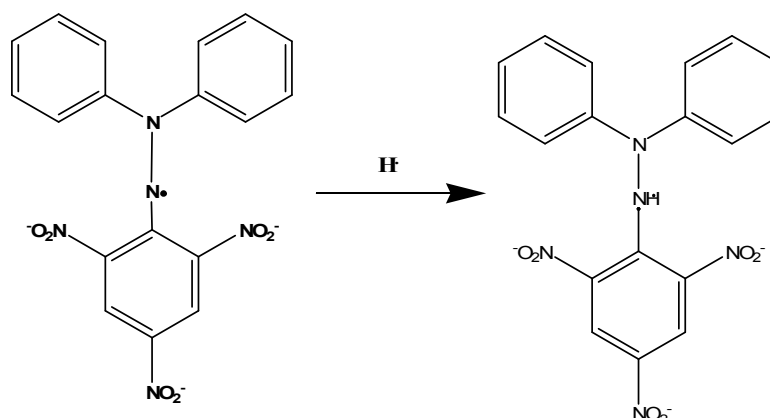


Figura 12: O radical 2,2-difenil-1-picril-hidrazila (violeta) e o produto de sua redução, α - α -difenil- β -picril hidrazina (incolor) (Mensor, 1999).

A capacidade de seqüestro do radical livre DPPH• pela amostra é determinada pela capacidade de transferência de hidrogênio para o radical livre estável DPPH•. A propriedade de seqüestrar radicais livres por substâncias presentes em vários extratos de plantas, sugere um possível papel protetor destes metabólitos, reduzindo o risco de doenças cardiovasculares, além de outras patologias associadas à formação de radicais livres, em humanos (Borguini, 2006). Resultados encontrados por Brand-Williams *et al.* (1995) mostraram que a interação de um antioxidante com o radical DPPH• depende de sua estrutura conformacional. Algumas substâncias reagem muito rapidamente com o DPPH•, reduzindo um número de moléculas deste radical correspondente ao número e à disposição dos grupos hidroxila na molécula.

É possível relacionar a avaliação do potencial antioxidante de um vegetal com seu conteúdo de polifenóis (Heimler *et al.*, 2006). Resultados de estudo sobre atividade anti-radicalar em algumas variedades de *Brassica oleracea*, como brócolis, repolho preto e couve-de-bruxelas, realizados por Heimler *et al.* (2006) constataram que existe uma correlação considerável entre a atividade antioxidante em que foi utilizada solução de DPPH• 0,0025 g/100 ml, tendo rutina como padrão, e os conteúdos de fenóis totais e de flavonóides. Os

autores verificaram que o brócoli foi a espécie que apresentou o maior teor de fenóis totais e flavonóides e a atividade antioxidante mais potente em relação às demais.

O presente estudo utilizou-se das metodologias da avaliação da atividade antioxidante *in vitro* por seqüestro do radical DPPH• e do teor de fenóis totais pelo método de Folin-Ciocalteu.

1.3 A espécie *Brassica rapa* L. (nabo)

1.3.1 Botânica

Planta anual ou bianual, herbácea: folhas glabras e glaucas, flores amarelo-ouro, grandes, espaçadas; sementes finamente pontuadas (Figura 13). É encontrada, ainda, a variedade *esculenta*, de raiz grossa, carnosa, comestível (variedade *esculenta* DC.) (Corrêa, 1978).

Nativa do sul da Europa, ocorre também na América do Sul. No Brasil, é encontrada em todas as regiões (Wanderley *et al.*, 2002).

Brassica rapa L., popularmente conhecida como nabo, é um dos vegetais cultivados mais antigos, usado na alimentação humana desde a pré-história. A espécie é notavelmente popular na Europa, particularmente nas regiões mais frias. Cresce bem em climas frios e pode aguardar por muitos meses até a colheita. Na Península Ibérica constitui, juntamente com outras espécies de *Brassica*, um suprimento singular durante o inverno (Fernandes *et al.*, 2007).

As partes comestíveis do nabo são geralmente consumidas sob a forma cozida, sendo usadas no preparo de sopas (Fernandes *et al.*, 2007).



www.comune.spinea.ve.it/index.php/ambiente/1969

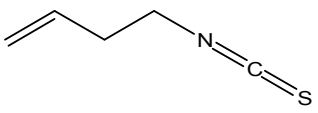
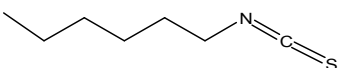
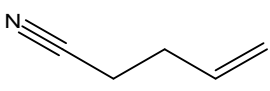
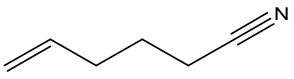
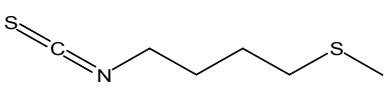
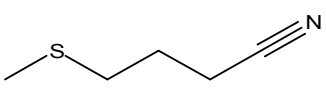
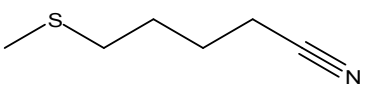
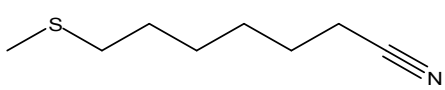


Figura 13: Flores, raízes e desenho de *Brassica rapa* L.
(www.maltawildplants.com; www.comune.spinea.ve.it/index.php/ambiente/1969; www.unifr.ch).

1.3.2 Estudos químicos realizados

Os estudos químicos sobre o nabo se concentram na identificação de glicosinolatos e seus derivados. Hashimoto *et al.* (1982) detectaram por cromatografia em fase gasosa acoplada à espectrometria de massas isotiocianatos e nitrilas em *Brassica rapa* L. var. *laciniitolia* Kitamura e *B. rapa* L. subvar. *Hiroshimana* Kitamura (Quadro 1):

Quadro 1: Derivados de glicosinolatos identificados em *B rapa* L. var. *laciniitolia* Kitamura e *B. rapa* L. subvar. *Hiroshimana* Kitamura (Hashimoto *et al.*, 1982).

Substância	Estrutura
isotiocianatos	
Isotiocianato de 4-pentenila	
Isotiocianato de n-hexila	
nitrilas	
4-pentenitrila	
5-hexenitrila	
metiltio isotiocianatos	
Isotiocianato de 4-metiltiobutila	
metiltionitrilas	
4-(metiltio)-butanonitrila	
5-(metiltio)-pentanonitrila	
7-(metiltio)-heptanonitrila	

Chong *et al.* (1982) identificaram, em raízes de 10 cultivares de nabo, a goitrina (5-viniloxazolidina-2-tiona, exceto em uma cultivar), isotiocianatos e tiocianato. Os autores verificaram que o conteúdo de derivados de glicosinolatos geralmente aumenta à medida em que o vegetal amadurece.

Ju *et al.* (1982) e El-Sayed *et al.* (1995) identificaram por CG e CG/EM os isotiocianatos de 3-butenila, 4-pentenila, 4-(metiltio)-butila e 2-feniletila e as nitrilas 1-ciano-

4-metiltiobutano e 2-feniletilnitrila. Verificaram que o isotiocianato de 2-feniletila foi predominante nas raízes do nabo e que estes derivados mostraram atividade contra *Cândida albicans* e diversos outros patógenos.

Kameoka e Hashimoto (1985) identificaram, em folhas e talos de nabo, os derivados de glicosinolatos 4-pentenitrila, 5-hexenitrila, 3-fenilpropionitrila, isotiocianato de 3-butenila, isotiocianato de 4-pentenila, 5-metiltiopentanitrila e 6-metiltioexanitrila. Os componentes detectados em concentrações menores foram trissulfeto de dimetila, isotiocianato de 4-(metiltio)-butila e isotiocianato de 5-(metiltio)-pentila.

Uda *et al.* (1988) verificaram que, embora os isotiocianatos do nabo não tivessem apresentado variação de suas concentrações em condições de congelamento (-22°C), os isotiocianatos de 3-metilpropila, 4-(metiltio)-butila (erucina) e 5-(metiltio)-pentila (berterofina) tiveram suas concentrações diminuídas, mesmo a -22°C. Os autores identificaram na espécie, por cromatografia em fase gasosa e cromatografia em fase gasosa acoplada à espectrometria de massas (CG-CG/EM), derivados de glicosinolatos, como isotiocianatos e nitrilas, e outros constituintes voláteis, como ésteres, sulfetos, alcanos, fenóis, aldeídos, cetonas, hidrocarbonetos e ácidos carboxílicos.

Conforme já mencionado anteriormente, os glicosinolatos produzidos pelos vegetais do gênero *Brassica* também têm função de protegê-los contra ataques de herbívoros e patógenos. Estes glicosinolatos são considerados uma das razões porque os vegetais deste gênero são tão amplamente distribuídos e podem sobreviver às mais extremas condições ambientais e de estresse (Liang *et al.*, 2006). Como exemplo de mecanismo de proteção proporcionado pelos derivados de glicosinolatos, Doughty *et al.* (1996), ao inocularem no nabo o fungo *Alternaria brassicae*, encontraram os seguintes derivados voláteis, em ordem decrescente de concentração: dissulfeto de dimetila, trissulfeto de dimetila, isotiocianato de

3-butenila, isotiocianato 4-pentenila, (Quadro 1) e 4-oxoisoforona (Figura 14). Verificou-se que alguns parasitos, como certas espécies de fungos, estimulam a liberação de isotiocianatos.

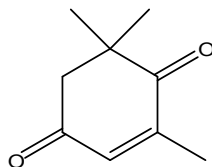


Figura 14: 4-oxoisoforona

Além dos glicosinolatos, os vegetais do gênero *Brassica* defendem-se pela produção de isoprenos, terpenos e alcanos. A ação destes voláteis consiste, essencialmente, na redução do ataque de herbívoros (Liang *et al.*, 2006).

Padilla *et al.* (2007) e Barbieri *et al.* (2008) constataram que a gliconapina e a glicobrassicinapina (Figura 15) são os principais glicosinolatos encontrados no nabo, mais especificamente nas variedades “friarielli”. Os glicosinolatos progoitrina e glicocalisina foram verificados como sendo característicos da variedade “sorrentino”.

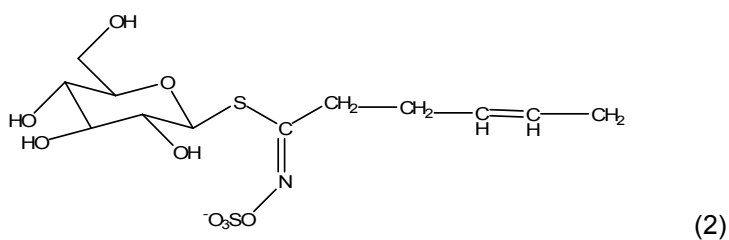
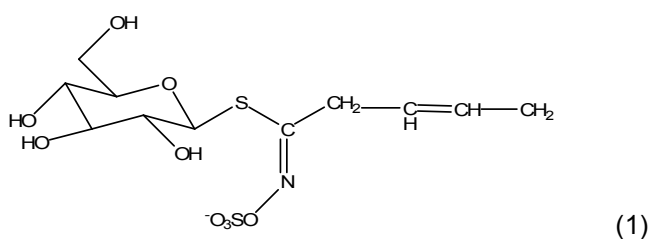


Figura 15: Estruturas químicas da gliconapina (1) e da glicobrassicinapina (2).

1.3.3 Atividade biológica

Fernandes *et al.* (2007) realizaram um estudo comparativo da atividade antioxidante entre as diferentes partes do nabo e observaram que as flores apresentaram a maior atividade (CE₂₅ de 0,47 mg/ml), seguidas das folhas e talos (CE₂₅ de 0,56 mg/ml). As raízes constituíram a parte que apresentou a menor atividade no vegetal, com valor de CE₂₅ de 1,44 mg/ml.

Sousa *et al.* (2008) investigaram a atividade biológica em três espécies do gênero *Brassica*, dentre elas, *Brassica rapa* var. *rapa*, e constataram que suas inflorescências constituem uma fonte apreciável de componentes protetores, como substâncias fenólicas e ácidos orgânicos (aconítico, cítrico, pirúvico, málico, xiquímico e fumárico, identificados no estudo), onde a atividade antioxidante por seqüestro de radicais livres (DPPH•) mostrou ser dependente da concentração de extrato vegetal e a atividade antimicrobiana, avaliada por concentração inibitória mínima (CIM), foi eficaz somente para bactérias Gram positivas, na ordem *Staphylococcus aureus* > *Bacillus cereus* >> *B. subtilis*.

1.4 *Eruca sativa* Mill. (rúcula)

1.4.1 Botânica

Eruca sativa, conhecida popularmente por rúcula (Figura 16), é uma planta anual ou bianual e constitui uma das variedades da mostarda. É originária da região mediterrânea, mas está presente em todas as partes do planeta. É extensivamente consumida em alguns países da Europa, como a Itália e na culinária indiana. As folhas são muito empregadas como incremento em saladas, dado o seu sabor pungente. Em seu uso medicinal, é bastante

conhecida pelas suas propriedades adstringentes, diuréticas, digestivas, emolientes, tônicas, depurativas, laxativas, rubefacientes e estimulantes (Sarwar Alam *et al.*, 2007).



www.nature-diary.co.uk



www.kvarkadabra.net



commons.wikimedia.org

Figura 16: Flor, folhas e desenho de *Eruca sativa* (rúcula).

1.4.2 Estudos químicos realizados

Mahran *et al.* (1992) identificaram quatro isotiocianatos nas sementes de rúcula: isotiocianato de metila, isotiocianato de 3-butenila, isotiocianato de 5-(metiltio)-pentila e isotiocianato de 4-(metiltio)-butila, sendo os três primeiros descritos pela primeira vez para esta parte da planta e, o último, o componente considerado majoritário da classe. Além

destas substâncias, 4-(metiltio) pentanonitrila, hexanal, nonanol, tetraidrotiofeno e 2-pentilfurano foram também identificados pela primeira vez no óleo de semente de rúcula.

El Tantawy (2000) detectou por CG/EM, na fração volátil de folhas frescas de rúcula, a 5-(metiltio)-pentanonitrila, também verificado posteriormente por Miyazawa *et al.* (2000) e Badee *et al.* (2003), como o componente em maior concentração, além de outras substâncias, como o n-octacosano e estigmasterol, na matéria insaponificável, e o ácido linolênico, como o principal dentre os ésteres de ácidos graxos encontrados.

Bennett *et al.* (2002) observaram que o principal glicosinolato presente nas folhas de *Eruca sativa* é o glicosinolato de 4-(metiltio)-butila, com o seu produto de hidrólise, o isotiocianato de 4-(metiltio)-butila, considerado o responsável pelo sabor e aroma e odor característicos da rúcula, de acordo com os resultados encontrados por Mahran *et al.* (1992).

Exemplos de glicosinolatos e seus derivados encontram-se representados na Figura 17.

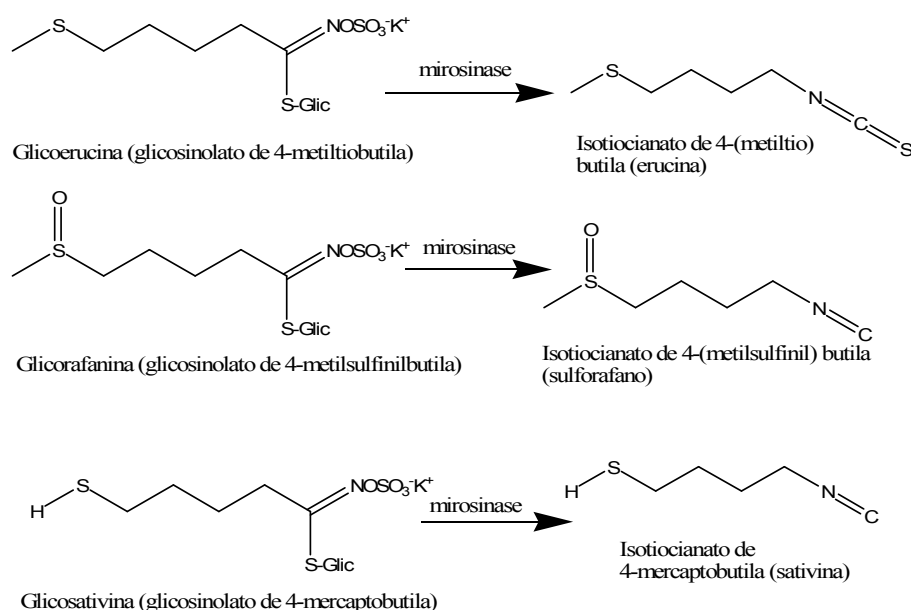


Figura 17: Estrutura dos principais glicosinolatos identificados em espécies de *Eruca* e *Diplotaxis* e os isotiocianatos derivados.

Jirovetz *et al.* (2002) encontraram, dentre os 54 constituintes voláteis identificados nas folhas de rúcula extraídos por SPME, CG e CG/EM o isotiocianato de 4-(metiltio)-butila (14,2%), *cis*-3-hexen-1-ol (11,0%), butanoato de *cis*-3-hexenila (10,8%), isotiocianato de 5-(metiltio)-pentila (9,3%), 2-metilbutanoato de *cis*-3-hexenila (5,4%) e 5-(metiltio) pentanonitrila (5,0%), já descritas anteriormente, como sendo as substâncias promotoras do aroma característico da rúcula.

Lazzeri *et al.* (2004) encontraram teores apreciáveis dos glicosinolatos glicoerucina e glicorafanina em sementes de rúcula, avaliadas em dois períodos do ano - cerca de 117,3 $\mu\text{mol/g}$ na primavera e 108,8 $\mu\text{mol/g}$ no outono.

Mastelic *et al.* (2008) identificaram na fração volátil obtida por hidrodestilação o isotiocianato de 4-(metiltio)-butila (erucina), 5-(metiltio) pentanonitrila (nitrila erucina) e o ciclotiooctano, como produtos de degradação da glicoerucina. Além destes, outros derivados de glicosinolatos, presentes nesta fração volátil, também foram detectados por CG-CG/EM, tais como dissulfeto de dimetila, trissulfeto de dimetila, isotiocianato de metila, isotiocianato de 3-butenila, isotiocianato de 4-metilpentila, isotiocianato de hexila, 4-(metiltio) butanonitrila e 5-(metiltio) pentanonitrila.

1.4.3 Atividade biológica

Sarwar Alam *et al.* (2007) descreveram que a glicoerucina (Figura 16) é o principal agente antioxidante presente no extrato de sementes de *E. sativa*. A atividade antioxidante da glicoerucina implica plausivelmente no seqüestro de radicais livres e na indução de enzimas de destoxificação de fase II (Zhang *et al.*, 1992).

Em estudo realizado por Barillari *et al.* (2005), foi avaliado o potencial antioxidante da glicoerucina, bem como do seu isotiocianato derivado, a erucina, frente a diferentes mecanismos de oxidação, como peróxido de hidrogênio (H₂O₂), hidroperóxidos de alquila (ROOH) e radicais peroxila (ROO[•]). Os autores verificaram que, embora já fosse conhecido o poder antioxidante indireto dos isotiocianatos, como o sulforafano e a erucina, através da indução de enzimas de destoxificação de fase II (glutathione transferase, quinona-redutase, epóxido-hidrolase e heme-oxigenase), o glicosinolato glicoerucina apresentou uma boa atividade antioxidante direta e preventiva, dado à sua capacidade em decompor hidroperóxidos e peróxido de hidrogênio, os principais responsáveis pela etapa de iniciação.

O grupo metiltio-, que constitui a parte ativa da glicoerucina e de seu derivado, erucina, é responsável pela atividade antioxidante destes metabólitos, promovendo a oxidação a metilsulfóxido. De forma interessante, o produto biológico deste processo de seqüestro do peróxido de hidrogênio é a glicorafanina que, por sua vez, é o precursor do sulforafano, o isotiocianato quimiopreventivo mais importante da família Brassicaceae (Barillari *et al.*, 2005).

Em análise do óleo essencial extraído de sementes de rúcula por hidrodestilação, Badee *et al.* (2003) detectaram isotiocianato de 4-(metiltio)-butila como sendo o principal constituinte da fração volátil (94,10%) e verificaram que o óleo apresentou efeito antimicrobiano apreciável contra *Micrococcus* spp., *Pseudomonas* spp e *Sacharomyces cerevisiae*.

Os derivados voláteis dos glicosinolatos identificados por CG/EM em folhas frescas de rúcula por El Tantawy (2000), dentre os quais, a 5-(metiltio) pentanonitrila (mais abundante na mistura, conforme mencionado anteriormente), apresentaram atividade citotóxica potente contra carcinoma de Ehrlich em células de ascídia *in vitro*.

Nos últimos anos, a rúcula vem ganhando importância como hortaliça e condimento, além de ser reconhecida como uma fonte importante de agentes quimiopreventivos. Lamy *et al.* (2008) observaram que nenhum efeito genotóxico ocorreu em células HepG2 tratadas com 50µl/ml de suco de rúcula durante 24 horas. Ainda neste trabalho, verificaram que o extrato de rúcula reduziu a genotoxicidade induzida por benzopireno em teste *in vitro*, efeito este acompanhado de uma indução significativa da glutatona S-transferase. A análise química por cromatografia em fase gasosa identificou os isotiocianatos erucina, sulforafano, erisolina e isotiocianato de feniletila, além de outros metabólitos especiais encontrados em rúcula, incluindo substâncias polifenólicas, ácido ascórbico e carotenóides, todos conhecidos por sua ação quimiopreventiva. Resultados obtidos de isotiocianatos isolados admitem que a interação sinérgica é responsável pela potencialização do efeito genotóxico do material vegetal.

1.5 *Raphanus sativus* L. (rabanete)

1.5.1 Botânica

Planta anual ou bianual, com raiz branca, vermelha ou preta, mais ou menos volumosa e forma variável segundo a variedade cultural (Figura 18). Há numerosas variedades hortícolas, que geralmente diferem na forma e tamanho da raiz. É comestível e muito apreciada, sendo, por isso, objeto de amplo cultivo (Corrêa, 1978).

O rabanete é amplamente empregado na culinária do leste da Ásia sob as formas fresca, em conserva ou fermentada (Coogan *et al.*, 2001). Gilani e Ghayur (2004) citam como propriedades medicinais das folhas do rabanete: laxativo, estimulante, digestivo e útil para outras desordens do estômago.



www.kenbowles.net

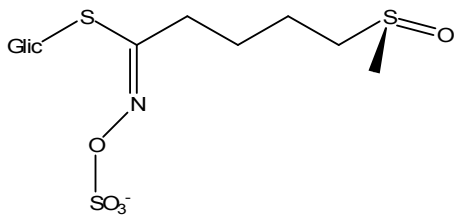


www.biodiversityexplorer.org

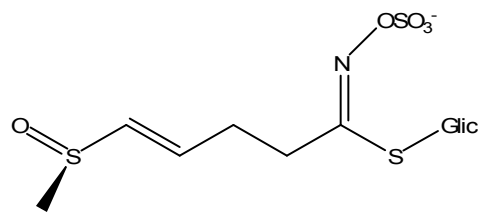
Figura 18: Flor e raízes de *Raphanus sativus* L.

1.5.2 Estudos químicos realizados

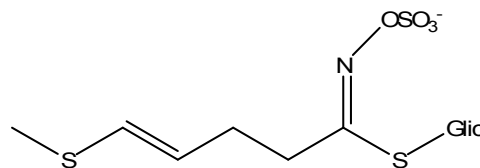
O rabanete contém três glicosinolatos principais: glicosinato de 4-(metilsulfinil) butila (glicorafanina) e glicosinato de 4-(metilsulfinil) 3-butenila (glicorafenina), prevalentes nas sementes, e glicosinato de 4-(metiltio)-3-butenila, que é mais abundante na raiz (Figura 19) (Ippoushi *et al.*, 2007).



Glicosinato de 4-(metilsulfinil) butila
(glicorafanina)



Glicosinato de 4-(metilsulfinil)-3-
butenila (glicorafenina)



Glicosinato de 4-(metiltio)-3-butenila (glicorafasatina)

Figura 19: Os principais glicosinolatos encontrados no rabanete (Ippoushi *et al.*, 2007).

Schreiner *et al.* (2002) realizaram estudo para avaliar os efeitos sazonais sobre os componentes e a coloração de rabanetes. Foram identificados os glicosinolatos indólicos glicobrassicina e 4-metóxi glicobrassicina (Figura 2, página 5), que revelaram uma dependência moderada de temperatura e densidade de fluxo de fóton fotossintético. Já os glicosinolatos de alquenila, progoitrina e glicorafasatina, praticamente não foram afetados pela irradiação e fracamente influenciados pela temperatura. Este efeito restrito dos glicosinolatos indólicos e de alquenila se deve, presumivelmente, ao fato de que a raiz do rabanete é, apenas em parte, exposta à radiação direta. Assim, a influência da irradiação no rabanete não é suficiente para melhorar a síntese de glicosinolatos, como no brócolis. Em contraste aos glicosinolatos do rabanete, a glicorafanina, principal glicosinolato encontrado no brócolis, apresentou uma forte dependência de irradiação e temperatura durante o cultivo. Os autores concluíram que, para a produção de constituintes bioativos no rabanete, particularmente de teores elevados de glicosinolatos indólicos, as melhores épocas para o cultivo são a primavera e o outono. O cultivo no verão pode satisfazer melhor as preferências do consumidor particularmente pela cor e sabor devido aos níveis desejáveis de glicosinolatos de alquenila e monossacarídeos.

Barillari *et al.* (2005) verificaram influência da temperatura e do estágio de desenvolvimento no conteúdo de glicosinolatos nas sementes das cultivares. Os vegetais armazenados à temperatura ambiente (28° a 30°C) ofereceram menor disponibilidade de material para o isolamento da glicorafasatina, enquanto temperaturas mais baixas ofereceram resultados melhores, constituindo condições mais favoráveis à disponibilidade de glicosinolatos.

Para Afsharypuor *et al.* (2005) os isotiocianatos, que representam uma fração relativamente elevada dos constituintes voláteis (58,3%), contribuem de forma importante para o *sabor e aroma* característico dos vegetais crucíferos.

Nakamura *et al.* (2001) descreveram que o isotiocianato de 4-(metiltio)-3-butenila (Figura 20) é considerado o principal isotiocianato que confere a característica pungente do rabanete.

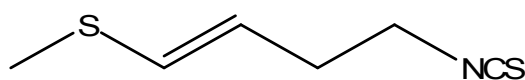


Figura 20: Estrutura química do isotiocianato de 4-metiltio-3-butenila.

Foi verificado que as rafanusaninas (Figura 21) estão largamente presentes no gênero *Raphanus*, mas não foram identificadas em outras espécies examinadas da família Brassicaceae (Hasegawa *et al.*, 2000).

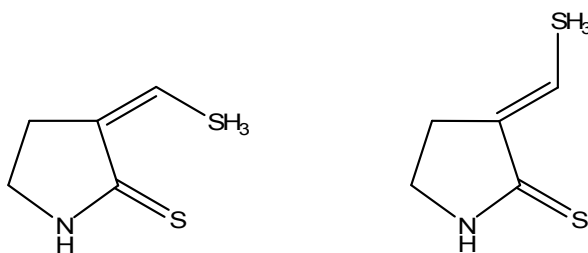


Figura 21: Estruturas químicas da *cis*-rafanusanina e da *trans*-rafanusanina

Matsuoka *et al.* (1998) demonstraram que a rafantina ou rafanusanina, conhecida por suas propriedades anti-hipertensiva e anestésica, é um artefato formado a partir do isotiocianato de 4-(metiltio)-3-butenila durante a extração das raízes e sementes do rabanete com metanol e, portanto, não deve estar envolvido no fototropismo do vegetal, ou seja, na planta intacta, ao menos em concentrações suficientemente elevadas para exercer as atividades biológicas mencionadas acima.

Afsharypuor *et al.* (2005) encontraram 21 constituintes voláteis de semente de rabanete por análise em CG e CG/EM, dentre estes, os derivados de glicosinolatos trissulfeto de dimetila, isotiocianato de isoamila, isotiocianato de 4-metilpentila, isotiocianato de hexila,

isotiocianato de heptila, isotiocianato de benzila, isotiocianato de 4-(metiltio)-(3Z)-butenila, isotiocianato de 4-(metiltio)-butila, isotiocianato de 4-(metiltio)-(3E)-butenila, isotiocianato de 2-feniletila e isotiocianato de 5-(metiltio)-pentila.

Em sua investigação da ocorrência de antocianinas nas cascas das raízes, pecíolos e flores de “rabanete vermelho”, Tatsuzawa *et al.* (2008) contribuíram do ponto de vista quimiotaxonômico para a família Brassicaceae ao detectarem a antocianidina acilada 3-soforosídeo-5-glicosídeo nas flores, nunca antes verificadas nas espécies do gênero *Raphanus*, mas já identificadas em outros gêneros. Dois tipos de antocianidinas glicosídicas já haviam sido identificados na família. Uma delas, a 3-soforosídeo-5-glicosídeo de cianidina acilada, a antocianina *p*-cumaroil e outras cinco antocianinas do tipo pelargonidina foram encontradas na raiz de *Raphanus sativus*. Estes pigmentos constituem os principais componentes da raiz, pecíolos e flores do “rabanete vermelho”. Apesar da forma *trans-p*-cumaroil ser abundante nestas três partes da planta, a forma *cis* é encontrada em uma quantidade muito pequena na raiz, mas em quantidades bem maiores nas flores e pecíolos.

1.5.3 Atividade biológica

Os glicosinolatos glicorafenina e glicorafasatina são metabólitos secundários típicos de rabanete (*Raphanus sativus* L.), onde o primeiro prevalece nas sementes e o segundo predomina na raiz. A atividade citotóxica *in vitro* da glicorafenina foi testada contra diversas células tumorais, graças à facilidade de purificação de uma quantidade considerável deste glicosinolato das sementes de *Raphanus sativus* cv. Pegletta. Em contra partida, não há muitos estudos com glicorafasatina porque o isolamento a partir da raiz do rabanete não oferece um rendimento muito satisfatório (Barillari *et al.*, 2005).

Constatou-se que as propriedades oxi-redutoras destes metabólitos (glicorafenina e glicorafasatina) têm implicação direta nos benefícios à saúde humana, no que tange aos seus mecanismos regulatórios. O rabanete é muito apreciado no Oriente devido ao seu conteúdo variado de agentes antioxidantes, capazes de prevenir danos causados por H₂O₂. Embora o conteúdo de glicorafasatina seja considerado um parâmetro de qualidade tanto do rabanete fresco quanto do processado, os dados literários referem-se apenas à atividade antimicrobiana do isotiocianato derivado de glicorafasatina e de seus efeitos antimutagênicos indiretos (Barillari *et al.*, 2005).

Nakamura *et al.* (2001) observaram atividade antimutagênica em células de *Escherichia coli* B/r WP2 de extrato hexânico de rabanete, onde foram identificados os isotiocianatos de 4-(metiltio)-3-butenila e de 2-feniletila (Quadro 1). Verificaram que o efeito antimutagênico do isotiocianato de feniletila era cinco vezes maior do que o do isotiocianato de 4-(metiltio)-3-butenila, embora a concentração deste seja consideravelmente maior do que a do primeiro.

Suh *et al.* (2006) observaram que, devido ao seu elevado potencial antioxidante, os isotiocianatos de 4-(metiltio)-3-butenila, de alila, de benzila e de feniletila, isolados do extrato hexânico de rabanete, foram capazes de inibir a proliferação de células do músculo liso vascular, prevenindo, assim, a aterosclerose.

A presença de glicosinolatos no rabanete confere, através de seus produtos de hidrólise (isotiocianatos), um efeito antioxidante pela inibição da geração de superóxido e óxido nítrico (Ippoushi *et al.*, 2007). Neste trabalho, os autores constataram a redução da peroxidação lipídica e da modificação de bases do ADN em ratos alimentados por rabanete, demonstrando o efeito antioxidante do vegetal, relacionado à redução de carcinogênese.

Em estudo realizado por Gilani e Ghayur (2004), o extrato bruto das folhas de rabanete revelaram um perfil espasmogênico no íleo e colon de porco-guiné. O efeito

estimulante foi bloqueado pela pirilamina, um antagonista histaminérgico (H_1), sugestivo de efeito histaminérgico que justifica o uso de folhas de rabanete como laxativo. Há evidências suficientes para a importância da histamina como um mensageiro celular importante do trato gastrintestinal, estimulando vários músculos lisos, incluindo os tecidos intestinais, pela ativação dos receptores H_1 . Além do elemento contrátil, o extrato também exibiu uma atividade relaxante fraca. Estes dados demonstram claramente a presença de um componente histamínico espasmogênico na planta, justificando seu uso tradicional em constipação, juntamente com um fator espasmolítico leve observado em uma dose relativamente alta, que pode ser útil para tratar espasmos abdominais indesejáveis, normalmente associados a terapias a base de laxativos a doses elevadas (Gilani e Ghayur, 2004).

Os tubérculos frescos de rabanete são empregados em decoctos por nativos dos estados de Oaxaca e Guerrero, no México, para o tratamento de afecções do trato urinário, especialmente, a urolitíase. Investigações prévias da parte tuberosa de *Raphanus sativus* revelaram a presença de peptídeos ricos em cisteína com atividade antifúngica substancial contra diversas espécies, isoperoxidasas, peroxidases, os alcalóides pirrolidina, isoquinolina, feniletilamina, ácido 1,2'-pirrolidina-tion-3'-il-3-carboxílico, 1,2,3,4-tetrahydro- β -carbolina e as substâncias sulfuradas glicoparina, sinigrina, isotiocianato de alila e isotiocianato de *trans*-4-metiltio-3-butenila (Vargas S. *et al.*, 1999). Os autores verificaram que o extrato aquoso das cascas de *Raphanus sativus* inibiram a formação de cálculos renais (urolitíase) de forma dependente da dose. Ocorreu um decréscimo significativo nos pesos das pedras e um aumento do volume de urina em 24 horas, quando comparado ao controle. Não houve perda de peso corporal significativa. A atividade diurética observada mostrou-se efetiva na prevenção da deposição de cálculo nos rins, confirmando a utilidade do uso da planta na medicina popular contra a urolitíase (Vargas S. *et al.*, 1999).

2 OBJETIVOS

2.1 Objetivo geral

Avaliar a composição de voláteis e atividade antioxidante em *Eruca sativa* Mill., *Brassica rapa* L. e *Raphanus sativus* L.

2.2 Objetivos Específicos:

- Extrair a fração volátil das espécies, adquiridas no verão e no inverno ;
- Comparar a composição da fração volátil em função do corte, ou seja, nabo com casca e sem casca e rabanete com casca e sem casca;
- Comparar a composição da fração volátil das folhas da rúcula em função do tempo de permanência no refrigerador;
- Identificar a presença de derivados dos glicosinolatos nas frações voláteis das três espécies;
- Comparar a atividade antioxidante de cada espécie, separadamente, pelo método de seqüestro de radicais livres (DPPH), em função dos métodos citados acima.

3 PARTE EXPERIMENTAL

A variabilidade dos produtos de hidrólise dos glicosinolatos, de natureza volátil, presentes nas três espécies de Brassicaceae: *E. sativa* Mill., *B.rapa* L., e *R. sativus* L., foi avaliada com o intuito de se investigar se os processos de retirada das cascas do nabo e rabanete, assim como o armazenamento das folhas de rúcula sob refrigeração a 6°C durante seis dias, afetam a concentração desses metabólitos. De forma paralela, foram verificadas

possíveis alterações no poder antioxidante desses vegetais como resultado dos respectivos processamentos.

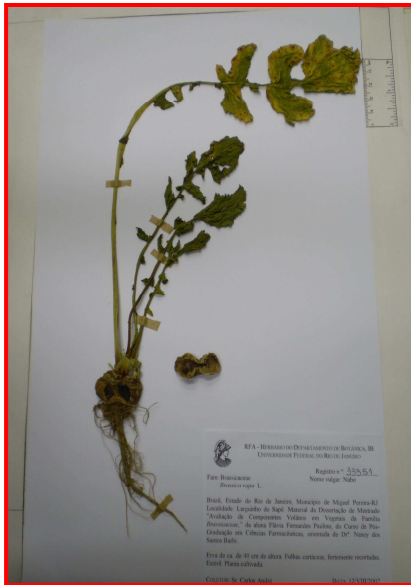
3.1 Coleta do material


As espécies botânicas (nabo, rabanete e rúcula) foram adquiridas em diferentes estabelecimentos do comércio varejista do município do Rio de Janeiro: Feira-livre, Supermercado e uma loja especializada do tipo “Hortifruti”. Seus respectivos responsáveis foram entrevistados respondendo perguntas sobre o local, hora e condições do cultivo, transporte e armazenamento dos seus produtos até a aquisição pelo consumidor. A obtenção do material botânico foi realizada durante os períodos de dezembro a março e de junho a agosto, objetivando avaliar o impacto de tais variações (sazonalidade e diferença de solo) no conteúdo de glicosinolatos e conseqüente benefício para o consumidor.

Os lotes foram adquiridos em quantidades suficientes para atender à execução das análises.

3.2 Preparo das *exsicatas*

As *exsicatas* (Figuras 22 a 28) foram preparadas segundo a técnica de Fidalgo e Bononi (1989), registradas e depositadas no herbário do Departamento de Botânica do Instituto de Biologia da UFRJ, com a colaboração da Prof^a. Dr^a. Rosana Conrado Lopes e do Sr. Jorginaldo William de Oliveira.




 RFA - HERBÁRIO DO DEPARTAMENTO DE BOTÂNICA, IB
 UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO DE JANEIRO

Registro n.º: 33351

Fam: Brassicaceae Nome vulgar: Nabo
Brassica rapa L.


Brasil, Estado do Rio de Janeiro, Município de Miguel Pereira-RJ. Localidade: Larginho do Sapê. Material da Dissertação de Mestrado "Avaliação de Componentes Voláteis em Vegetais da Família *Brassicaceae*," da aluna Flávia Fernandes Paulino, do Curso de Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas, orientada de Dr^a. Nancy dos Santos Barbi.

Erva de ca. de 40 cm de altura. Folhas cartáceas, fortemente recortadas. Estéril. Planta cultivada.

COLETOR: Sr. Carlos André DATA: 12/VIII/2007
 DETERMINADOR: Rosana C. Lopes DATA: 17/VIII/2007

Figura 22: *Exsicata* do nabo adquirido na Feira-livre e etiqueta de registro do herbário.




 RFA - HERBÁRIO DO DEPARTAMENTO DE BOTÂNICA, IB
 UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO DE JANEIRO

Registro n.º: 33353

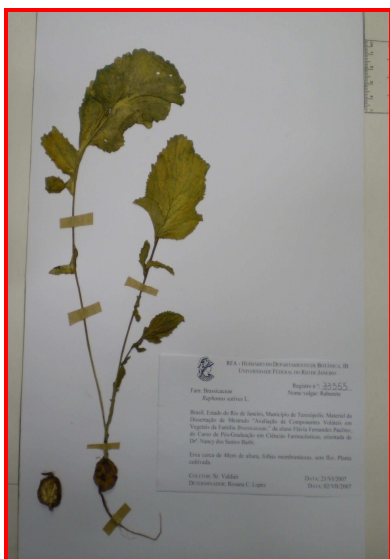
Fam: Brassicaceae Nome vulgar: Rabanete
Raphanus sativus L.


Brasil, Estado do Rio de Janeiro, Município de Miguel Pereira-RJ. Localidade: Larginho do Sapê. Material da Dissertação de Mestrado "Avaliação de Componentes Voláteis em Vegetais da Família *Brassicaceae*," da aluna Flávia Fernandes Paulino, do Curso de Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas, orientada de Dr^a. Nancy dos Santos Barbi.

Erva cerca de 15 cm de altura, folhas membranáceas, sem flor. Planta cultivada.

COLETOR: Sr. Carlos André DATA: 04/VIII/2007
 DETERMINADOR: Rosana C. Lopes DATA: 17/VIII/2007

Figura 23: *Exsicata* do rabanete adquirido na Feira-livre e etiqueta de registro do herbário.





RFA - HERBÁRIO DO DEPARTAMENTO DE BOTÂNICA, IB
UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO DE JANEIRO

Registro n°: 33355

Fam: Brassicaceae Nome vulgar: Rabonete
Raphanus sativus L.


Brasil, Estado do Rio de Janeiro, Município de Teresópolis. Material da Dissertação de Mestrado "Avaliação de Componentes Voláteis em Vegetais da Família *Brassicaceae*," da aluna Flávia Fernandes Paulino, do Curso de Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas, orientada de Dr^a. Nancy dos Santos Barbi.

Erva cerca de 40 cm de altura, folhas membranáceas, sem flor. Planta cultivada.

COLETOR: Sr. Valdair DATA: 21/VI/2007
 DETERMINADOR: Rosana C. Lopes DATA: 02/VII/2007

Figura 24: *Exsicata* do rabonete adquirido no Hortifruti e etiqueta de registro do herbário.





RFA - HERBÁRIO DO DEPARTAMENTO DE BOTÂNICA, IB
UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO DE JANEIRO

Registro n°: 33356

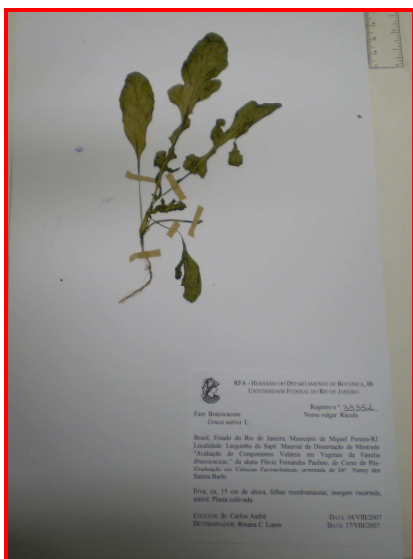
Fam: Brassicaceae Nome vulgar: Rabonete
Raphanus sativus L.


Brasil, Estado do Rio de Janeiro, Município de Teresópolis. Sítio São Sebastião – Estrada Teresópolis-Friburgo, km 28, Bonsucesso, Teresópolis, RJ. Material da Dissertação de Mestrado "Avaliação de Componentes Voláteis em Vegetais da Família *Brassicaceae*," da aluna Flávia Fernandes Paulino, do Curso de Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas, orientada de Dr^a. Nancy dos Santos Barbi.

Erva cerca de 20 cm de altura, folhas membranáceas, sem flor. Planta cultivada.

COLETOR: Manuel da Conceição Pinto Leal Ribeiro DATA: 19/VII/2007
 DETERMINADOR: Rosana C. Lopes DATA: 17/VIII/2007

Figura 25: *Exsicata* do rabonete adquirido no Supermercado e etiqueta de registro do herbário.





RFA - HERBÁRIO DO DEPARTAMENTO DE BOTÂNICA, IB
UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO DE JANEIRO

Registro n°: 33352

Fam: Brassicaceae Nome vulgar: Rúcula
Eruca sativa L.


Brasil, Estado do Rio de Janeiro, Município de Miguel Pereira-RJ. Localidade: Larginho do Sapê. Material da Dissertação de Mestrado "Avaliação de Componentes Voláteis em Vegetais da Família *Brassicaceae*," da aluna Flávia Fernandes Paulino, do Curso de Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas, orientada de Dr^a. Nancy dos Santos Barbi.

Erva, ca, 15 cm de altura, folhas membranáceas, margem recortada, estéril.
Planta cultivada.

COLETOR: Sr. Carlos André DATA: 04/VIII/2007
DETERMINADOR: Rosana C. Lopes DATA: 17/VIII/2007

Figura 26: *Exsicata* da rúcula adquirida na Feira-livre e etiqueta de registro do herbário.





RFA - HERBÁRIO DO DEPARTAMENTO DE BOTÂNICA, IB
UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO DE JANEIRO

Registro n°: 33354

Fam: Brassicaceae Nome vulgar: Rúcula
Eruca sativa L.

Brasil, Estado do Rio de Janeiro, Município de Teresópolis. Material da Dissertação de Mestrado "Avaliação de Componentes Voláteis em Vegetais da Família *Brassicaceae*," da aluna Flávia Fernandes Paulino, do Curso de Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas, orientada de Dr^a. Nancy dos Santos Barbi.

Erva, ca, 30 cm de altura, folhas membranáceas, margem recortada, estéril.
Planta cultivada.

COLETOR: Sr. Valdair DATA: 03/VII/2007
DETERMINADOR: Rosana C. Lopes DATA: 17/VIII/2007

Figura 27: *Exsicata* da rúcula adquirida no Hortifruti e etiqueta de registro do herbário.

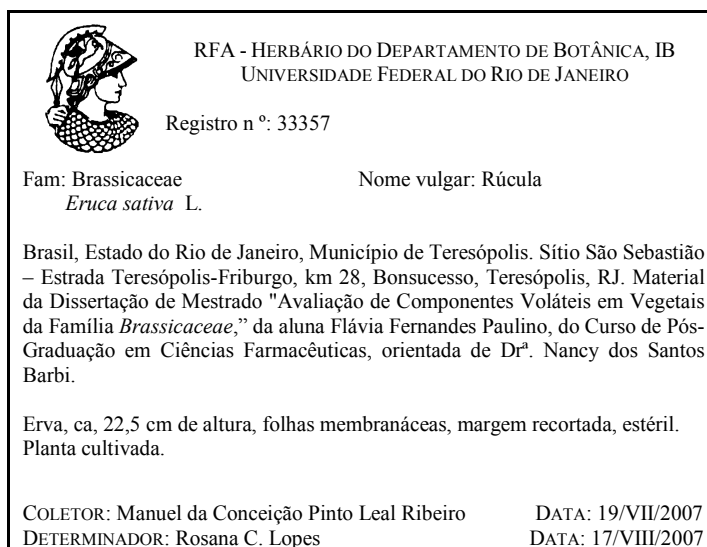
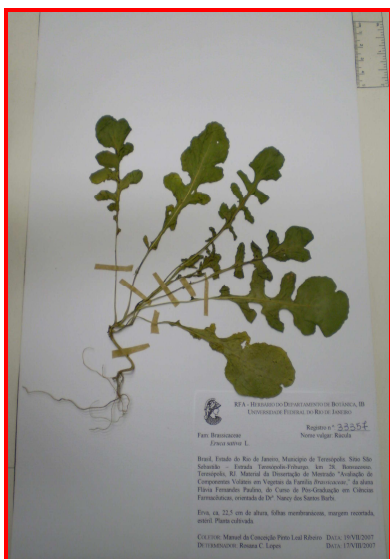


Figura 28: *Exsicata* da rúcula adquirida no Supermercado e etiqueta de registro do herbário.

Não foi possível preparar *exsicatas* para as amostras de nabo do Hortifruti e do Supermercado, pois nestes estabelecimentos estes vegetais são encontrados sem as folhas.

3.3 Extração e análise das frações voláteis por CG e CG/EM

Cada lote dos vegetais foi dividido em duas porções de 200 g da seguinte maneira:

nabo – uma porção (200 g) com casca e outra sem casca;

rabanete – uma porção (200 g) com casca e outra sem casca;

rúcula – uma porção (200 g) fresca e outra a ser refrigerada a aproximadamente 6°C por seis dias.

As porções dos vegetais foram lavadas em água corrente, picadas e submetidas, separadamente, à hidrodestilação em aparato de *Clevenger* modificado.

Visando-se obter uma fração enriquecida em componentes voláteis, mais particularmente dos produtos derivados dos glicosinolatos, foram adquiridos, antes do primeiro refluxo, 15 ml do hidrolato, a fim de prevenir perda dos constituintes mais voláteis

presentes na mistura, considerando que alguns isotiocianatos eluem da coluna do cromatógrafo logo nos primeiros minutos. Esta porção inicial do hidrolato foi mantida sob refrigeração até o final da extração (que durou duas horas), quando foram retirados mais 23 ml. Após reunião das duas porções do hidrolato e partição com diclorometano (Merck) obteve-se uma fração volátil que, em seguida, foi submetida à filtração em sulfato de sódio anidro (Merck) e mantida sob refrigeração até o momento das análises cromatográficas.

As frações foram inicialmente injetadas no cromatógrafo a gás modelo Varian Star 3400 CX, com detetor de ionização por chama (DIC), coluna DB5-MS, de dimensões 30m x 0,250mm x 0,25µm, cuja faixa de temperatura variou entre 60°C e 270°C a 3°C/minuto, temperatura do injetor a 260°C e interface a 200°C, tendo hidrogênio como gás de arraste. Posteriormente, com a colaboração do Prof. Dr. Antônio Jorge Ribeiro da Silva, do Núcleo de Pesquisas de Produtos Naturais, UFRJ, injetou-se a amostra em cromatógrafo a gás acoplado à espectrômetro de massas modelo Shimadzu GC/MS QP-5000 com detetor de massas, coluna ZB-5MS, modo *splitless*, nas mesmas programações de temperatura acima, com espectrômetro de massas a 70 eV e faixa de varredura que variou de 40 a 700 u.m.a.

A identificação dos componentes das frações voláteis foi feita por comparações: do perfil de fragmentação dos espectros de massas obtidos com aqueles da biblioteca eletrônica do equipamento (NIST107.LIB e NIST05.LIB); com espectros de massas e tempos de retenção obtidos a partir da injeção dos padrões isotiocianato de alila e isotiocianato de 2-feniletila (Sigma-Aldrich); dos índices de retenção (Kováts) calculados a partir dos tempos de retenção das substâncias eluídas e dos padrões de hidrocarbonetos lineares de série homóloga (C₈ a C₂₈), com os índices de retenção da literatura (Adams, 1995) e dados da literatura.

3.4 Atividade antioxidante

Os vegetais foram picados (nabo e rabanete com e sem casca e rúcula não refrigerada e refrigerada) e triturados com partes iguais de água destilada, filtrados em papel de filtro tipo xarope, recolhidos em frascos de vidro e armazenados no congelador. As amostras foram liofilizadas na Fundação Oswaldo Cruz, com a colaboração da Prof^a. Dr^a. Mônica Freiman de Souza Ramos, da Faculdade de Farmácia/UFRJ, e do Sr. Celso Evangelista dos Santos, do Núcleo de Pesquisas de Produtos Naturais, UFRJ.

A metodologia para a determinação da atividade antioxidante *in vitro* descrita a seguir foi adaptada de Mensor *et al.* (2001) e Fernandes *et al.* (2007)

Após testes de solubilidade dos extratos vegetais liofilizados com água, metanol e etanol, verificou-se que o extrato de rúcula solubilizou-se melhor em metanol, enquanto os de nabo e rabanete solubilizaram-se mais eficientemente em água. Prepararam-se soluções-estoque dos extratos solubilizados em seus respectivos solventes à concentração final de 1,0 mg/ml das quais foram retiradas alíquotas de modo a serem obtidas concentrações de 50, 100, 250, 350, 450, 500 e 750 µg/ml. As faixas de concentração variaram de 25 a 750 µg/ml para o rabanete, de 250 a 750 µg/ml para o nabo, e de 50 a 750µg/ml para a rúcula. Adicionou-se 1ml de solução metanólica de DPPH (Sigma-Aldrich) 0,1 mM a 2,5 ml das soluções contendo a amostra em concentrações diferentes, a reação foi realizada à temperatura ambiente, ao abrigo da luz, por 50 minutos. Findo este tempo, as absorvâncias foram medidas em espectrofotômetro UV mini 1240 UV-vis Spectrophotometer Shimadzu a 515 nm e a atividade antioxidante foi calculada usando-se a seguinte fórmula:

$$AA\% = 100 - \left\{ \frac{(Abs_{amostra} - Abs_{branco}) \times 100}{Abs_{controle}} \right\}$$

Onde: AA% - percentual de atividade antioxidante

Abs_{amostra} - leitura da absorvância obtida para a amostra

Abs_{branco} – leitura da absorvância obtida para o branco

Abs_{controle} – leitura da absorvância obtida para o controle negativo

Metanol (1,0 ml), com a solução de extrato de rúcula (2,5 ml), e água com as soluções dos extratos de nabo e rabanete (2,5 ml), foram usados como branco. A solução de DPPH (1,0 ml) com o metanol (2,5 ml) e com a água (2,5 ml) foi usada como controle negativo. Os experimentos foram realizados em triplicata. Como padrão foi utilizado o extrato de *Ginkgo biloba* EGb 761.

Os valores para CE₂₅ foram calculados por regressão linear, onde a abcissa representa a concentração dos extratos dos vegetais testados, expressa em µg/ml e, a ordenada, o percentual de atividade antioxidante por redução do DPPH•, com os respectivos desvios-padrão, calculados pelas médias das triplicatas. CE₂₅ é definido como a concentração de extrato necessária para produzir 25% de um efeito máximo estimado em 100% (Mensor *et al.*, 2001; Fernandes *et al.*, 2007).

A análise estatística dos dados foi realizada pelo teste t de Student, pareada unicaudal, em nível de significância de 5% (0,05) entre os processamentos. A diferença é considerada estatisticamente significativa quando $p \leq 0,05$ (Mensor *et al.*, 2001).

3.5 Determinação do teor de fenóis totais

A metodologia utilizada foi baseada em Andrade *et al.* (2007), com algumas adaptações.

A 1,0 ml das concentrações dos extratos aquosos de nabo, rabanete e rúcula, que variaram de 50 µg/ml a 1.000 µg/ml, foram adicionados 1,0 ml do reagente de Folin-Ciocalteu (Vetec) 2N e 2,0 ml de água destilada. Após um período de 2 a 5 minutos, acrescentou-se aos tubos 1,0 ml de solução de Na₂CO₃ a 10%, submetendo-se a reação à incubação por 1 hora à temperatura ambiente. A absorvância foi medida a 760 nm, usando água destilada como branco. O ácido gálico foi dissolvido em água e usado para a construção da curva de concentração padrão (2,5 µg/ml a 12,5 µg/ml) e os valores de fenólicos totais foram expressos como equivalentes de ácido gálico (mg de ácido gálico/g de amostra).

4. RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os óleos obtidos a partir de cada uma das amostras, de um modo geral, apresentaram semelhanças com relação à aparência, odor e rendimento. Observou-se que todas as frações consistiam de um óleo incolor, com odor forte e bem característico e de baixo rendimento (aproximadamente 0,001%). Os óleos adquiridos foram enviados para análise por CG e CG/EM e os resultados encontrados para cada uma das espécies, *B. rapa* L. (raízes com e sem casa), *E. sativa* Mill. (folhas) e *R. sativus* L. (raízes com e sem casca), serão apresentados a seguir. Em adição ao perfil químico da composição de voláteis das referidas espécies serão apresentados, também, os resultados comparativos da atividade antioxidante e fenóis totais para cada espécie antes e após o processamento utilizado.

4.1 A espécie *Brassica rapa* (nabo)

4.1.1 Amostras provenientes da Feira-livre

4.1.1.1 Identificação de componentes das frações voláteis das raízes do nabo

O cromatograma referente à amostra obtida a partir das raízes do nabo com casca (NCFV), coletada no mês de dezembro (Figura 39, página 132 em Anexos), mostra menor complexidade na composição de voláteis, quando comparado à amostra sem casca (NSFV) (Figura 40, página 133 em Anexos). Entretanto, após análise do perfil de fragmentação das substâncias, verificou-se que as duas amostras apresentam semelhança com relação à presença de metabólitos resultantes da hidrólise dos glicosinolatos (exceção feita para o isotiocianato de cicloexila, detectado apenas no nabo sem casca) que, de um modo geral, eluem da coluna cromatográfica ao longo da primeira meia-hora de análise, conforme pode ser observado, de uma forma geral, nos cromatogramas ao longo deste trabalho. A amostra obtida no mês de junho (inverno) apresentou um conteúdo menor em derivados de glicosinolatos, conforme pode ser visto nos cromatogramas NCFI e NSFI (Figuras 41, 42, 43 e 44, páginas 134 a 137 em Anexos). O Quadro 6 (página 65), mostra um resumo dos isotiocianatos, nitrilas e outros derivados do enxofre encontrados na fração volátil das raízes do nabo adquirido na feira nos meses de dezembro e junho.

Apenas a benzopropanonitrila (Figuras 88, 89 e 104, páginas 175 e 186 em Anexos) e os isotiocianatos de ciclopentila (Figura 82, 83 e 104, páginas 172 e 185 em Anexos) e 2-feniletila (Figuras 86, 87 e 104, páginas 174 e 185 em Anexos), foram encontrados em todas as amostras analisadas, conforme pode ser observado no Quadro 6 (página 65). O derivado benzopropanonitrila apresentou concentrações de 1,03% na porção com casca e 3,67% na

porção sem casca da amostra adquirida em dezembro, e 1,22% na porção com casca e 1,44% na porção sem casca da amostra obtida em junho. Nota-se que, de acordo com o perfil cromatográfico da análise por CG/EM, as concentrações da benzopropanonitrila aumentam sensivelmente nas amostras de nabo sem casca do mês de dezembro e pouco naquela do mês de junho, quando da retirada da casca. Esta nitrila já havia sido identificada por Hashimoto e Kameoka (1982 e 1985) em variedades de nabo e em *Brassica campestris* e *Rorippa indica*, dentre outras crucíferas, e recentemente, por Blazevic e Mastelic (2008) em *Raphanus sativus*.

O isotiocianato de ciclopentila, também presente em todas as amostras, foi o componente majoritário na fração volátil do nabo com casca da amostra obtida durante o mês de dezembro (33,59%). Entretanto, com a retirada da casca observou-se uma diminuição drástica de sua concentração para 10,60%. Na amostra do mês de junho, os percentuais encontrados foram bem menores: 2,45 % na porção com casca e 2,42% na porção sem casca.

No Quadro 6 (página 65), ao se comparar o perfil do conteúdo do isotiocianato de 2-feniletila, observa-se que não há alterações nas amostras de dezembro, que mantém concentrações em torno de 15,0% com e sem casca. Ao se observar o cromatograma obtido por CG/EM do nabo sem casca obtido em junho (Figura 44, página 137 em Anexos), verifica-se um número maior de substâncias com tempo de retenção acima de 40 minutos, que implicaria na diminuição do metabólito na amostra. Entretanto, conforme mostra o Quadro 6 (página 65), houve um aumento da concentração do derivado de 5,81%, no nabo com casca, para 19,5%, no nabo sem casca. Não se observa, para a amostra de dezembro, este perfil cromatográfico (Figuras 39 e 40, páginas 132 e 133 em Anexos). O valor percentual de 19,5% encontrado para o nabo sem casca do mês de junho, corrobora para esta observação, mostrando um pequeno aumento em relação ao nabo adquirido no período de maior temperatura. O isotiocianato de 2-feniletila foi encontrado também por Ju *et al.* (1982), em *Brassica napus* L. grupo *Napobrassica* e *B. rapa* L. grupo *Rapifera*. Hashimoto e Kameoka

(1985) descreveram sua presença em *B. campestris*, *Raphanus indica* e *Amorasia rusticana* e Blazevic e Mastelic (2008) em folhas e raízes de *Raphanus sativus*. O isotiocianato de 2-feniletila apresentou efeito protetor contra câncer de esôfago, induzido por nitrosamina (Stoewsand,1995).

Dentre o grupo das nitrilas, além da benzopropanonitrila, foram identificadas também: a 2-metil-5-hexenonitrila (Figuras 80 e 104, páginas 171 e 186 em Anexos), não detectada nas amostras do mês de junho, mas presente com alto rendimento no nabo adquirido em dezembro (21,0%) e que não foi alterado pela retirada das cascas (Figuras 39 e 40, páginas 132 e 133 em Anexos); e a 6-(metiltio)-hexanonitrila (Figura 97, página 181 em Anexos), com baixa concentração nas amostras de junho (0,7% no nabo com casca e apenas em quantidade-traço na amostra sem casca), conforme mostram as Figuras 41, 42, 43 e 44 (páginas 134 a 137 em Anexos) e o Quadro 6 (página 65). Esta substância já havia sido identificada por Hashimoto *et al.* (1982) na fração volátil de duas variedades de *B. rapa* L. cultivadas no Japão.

Conforme pode ser observado nos cromatogramas obtidos por CG/EM das amostras com e sem casca do nabo adquirido em junho (Figuras 41, 42, 43 e 44, páginas 134 a 137), o isotiocianato de 5-(metiltio)-pentila (conhecida como berteroína) (Figuras 102 e 104, páginas 184 e 185 em Anexos), eluído a 31,6 min., teve sua concentração aumentada com a retirada das cascas, passando de 0,6% para 7,1% (Quadro 6, página 65). A presença desta substância em *B. rapa*, já havia sido descrita por Hashimoto *et al.* (1982 e 1985) e, mais recentemente, em *Raphanus sativus* por Blazevic e Mastelic (2008). A berteroína, juntamente com o isotiocianato de benzila (em baixas concentrações na amostra) (Figuras 92 e 104, páginas 178 e 185 em Anexos), foram encontradas apenas no nabo adquirido no inverno (Quadros 4 e 5, páginas 62 e 64). O isotiocianato de benzila, também já havia sido identificado previamente por Jensen *et al.* (1953) em *B. oleracea capitata* var. *rubra* L. e *B. oleracea asparagoides* D.C. e mostrou eficácia ao bloquear o desenvolvimento de câncer mamário, induzido por

7,12-dimetilbenzantreno (DMBA), em ratas (Stoewsand, 1995). Apresentou também efeito inibidor da proliferação de células do músculo liso vascular, exercendo efeito antiaterogênico (Suh *et al.*, 2006). Recentemente, esse isotiocianato foi identificado por Blazevic e Mastelic (2008) em folhas de *Raphanus sativus* L. Foi verificada atividade antimicrobiana elevada para o isotiocianato de benzila e de *sec*-butila, contra bactérias Gram positivas, Gram negativas, fungos e leveduras, por Hashem e Saleh (1999).

De forma semelhante ao observado para o isotiocianato de ciclopentila, o isotiocianato de *sec*-butila (Figuras 78, 79 e 104, páginas 172 e 187 em Anexos) apresentou diminuição acentuada de sua concentração no vegetal, com a retirada da casca, na amostra obtida em dezembro (de 19,88% para 1,06%) (Figuras 39 e 40, páginas 134 e 135 em Anexos, e Quadro 6, página 65). Foram observadas reduções também, porém não de forma tão acentuada, para os isotiocianatos de isopropila (Figuras 76, 77 e 104, páginas 169 e 185 em Anexos) e 3-butenila (Figuras 84, 85 e 104, páginas 173 e 185 em Anexos) e para o trissulfeto de dimetila (Figuras 90 e 104, páginas 176 e 186 em Anexos). Os isotiocianatos de *sec*-butila e de 3-butenila já haviam sido identificados em outras Brassicaceae, principalmente no gênero *Brassica* (Jensen *et al.*, 1953; Wallbank e Wheatley, 1976; Hashimoto *et al.*, 1982; Hashimoto e Kameoka (1985). Doughty *et al.* (1996) e Rohloff e Bones (2005) constataram aumento nas concentrações do isotiocianato de 3-butenila e trissulfeto de dimetila, após inoculação do fungo *Alternaria brassicae* e *Arabidopsis thaliana* em *B. rapa*, sugerindo função de defesa destas substâncias contra patógenos. O trissulfeto de dimetila também havia sido encontrado em outras variedades de nabo cultivadas no Japão (Hashimoto *et al.*, 1982; Hashimoto e Kameoka, 1985). Este metabólito é formado a partir do sulfóxido de (+)-S-metil-L-cisteína, um α -ácido aminado encontrado em vegetais do gênero *Brassica* (Blazevic e Mastelic, 2008).

Na fração NSFV foram identificados os sesquiterpenos: α -cubebeno (quantidade-traço), α -copaeno (1,19%), epizonareno (0,64%) e δ -cadineno (2,08%) (Figura

29, página 65; Quadro 5, página 64). De acordo com Liang *et al.* (2006), a presença destes sesquiterpenos no gênero *Brassica* pode representar um possível papel no mecanismo de defesa desses vegetais.

Nas frações NSFV, NCFI e NSFI, foram identificados também aldeídos, hidrocarbonetos e ácidos graxos (Quadros 3, 4 e 5, páginas 60, 62 e 64).

O ftalato de di-butila, presente em praticamente todas as amostras (Quadros 2, 3, 4 e 5, páginas 59 a 64), contaminante bastante conhecido, é encontrado em materiais plásticos e pode contaminar solventes de laboratório, sedimentos e o solo. Em trabalho recente, Liao *et al.* (2008) verificaram que várias espécies de *Brassica* continham este contaminante como resultado da incorporação desta substância pelos vegetais a partir de solo contaminado. Os ftalatos são conhecidos por suas propriedades tóxicas como disruptores endócrinos. Estes compostos podem alterar o desenvolvimento reprodutivo através da ligação à receptores androgênicos ou estrogênicos, podendo causar atrofia testicular e redução da fertilidade, em baixas concentrações. A principal forma de exposição é através dos alimentos (Queiroz e Waissmann, 2006).

Outros contaminantes foram também identificados, como por exemplo o 4-mercaptobenzotiazol (quantidade-traço), identificado na amostra NSFV, conforme pode ser verificado no Quadro 3 (página 60). Esta substância é usada como fungicida e herbicida e pode estar presente na planta como resultado de aplicação de produto para o controle de patógenos (De Wever e Verachtert, 1997). Foram identificados ainda derivados siloxanos que são, geralmente, artefatos oriundos do material da coluna capilar cromatográfica, mas também podem ser encontrados no ambiente como poluentes, oferecendo risco de toxidez para o fígado, pulmões e sistema reprodutor (Greve *et al.*, 2008).

Song e Thornalley (2007) e del Aguila *et al.* (2006) verificaram que o método culinário pelo corte acarreta alterações no vegetal pois implica em rompimento de células,

ativação de enzimas e modificações no ambiente endógeno. Estas alterações causam perda de alguns componentes, particularmente, de agentes antioxidantes, e a conseqüente diminuição da vida-de-prateleira do vegetal.

Quadro 2: Composição da fração volátil das raízes do nabo com casca proveniente da Feira-livre adquirido em dezembro (NCFV).

Substância	TR (min.)	IR _{calc}	IR _{lit}	Conc. (%)
Isotiocianato de isopropila	3,57	838	-	1,34
2-metil-5-hexenonitrila	4,14	867	857	21,41
Isotiocianato de <i>sec</i> -butila	5,77	936	-	19,88
Trissulfeto de dimetila	7,08	977	-	1,26
Isotiocianato de 3-butenila	7,55	985	-	0,88
Isotiocianato de ciclopentila	11,42	1084	-	33,59
Benzopropanonitrila	19,04	1237	-	1,03
Isotiocianato de 2-feniletila	28,57	1456	-	15,03
Hexadecano	33,00	1597	1600	traços
Ftalato de di-octila	63,01	2537	-	5,58
Total quantificado				100,00

TR (min.) – tempo de retenção em minutos.

IR_{calc} – índice de retenção calculado a partir dos tempos de retenção das substâncias eluídas por CG/EM e de uma série homóloga de hidrocarbonetos alifáticos saturados (C₈ a C₂₈).

IR_{lit} - índice de retenção da literatura (Adams, 1995).

Conc. (%) - Concentrações calculadas em % de área da análise por CG/EM.

(-) – índice de retenção não descrito na literatura de referência (Adams, 1995).

Quadro 3: Composição da fração volátil das raízes do nabo sem casca proveniente da Feira-livre adquirido em dezembro (NSFV).

Substância	TR (min.)	IR_{calc}	IR_{lit}	Conc. (%)
Isotiocianato de isopropila	3,49	856	-	traços
2-metil-5-hexenonitrila	4,06	873	-	21,64
Isotiocianato de <i>sec</i> -butila	5,53	939	-	1,06
Trissulfeto de dimetila	7,07	978	-	traços
Isotiocianato de 3-butenila	7,24	983	-	traços
Isotiocianato de ciclopentila	11,02	1083	-	10,60
Isotiocianato de cicloexila	17,67	1231	-	1,19
Benzopropanonitrila	18,36	1237	-	3,67
α -cubebeno	22,46	1354	1351	traços
α -Copaeno	23,70	1374	1376	1,19
Isotiocianato de 2-feniletila	28,11	1456	-	15,49
Epizonareno	29,04	1497	1497	0,64
δ -cadineno	29,85	1519	1524	2,08
Hexadecano	33,05	1597	1600	traços
Dodecilocloexano	36,37	1683	-	6,15
Ftalato de butila	42,89	1872	-	2,06
Ácido hexadecanóico	46,70	1960	-	1,99
4-mercaptobenzotiazol	48,35	2040	-	Traços
Ácido octadecadienóico	49,66	2130	-	0,98
Ácido octadecenóico	52,05	2144	-	2,93
Docosano	54,51	2201	2200	0,82
Ácido octadecenóico (isômero)	54,69	2233	-	2,42
N,N-dimetilexanamida	55,01	2267	-	0,95
Não identificado	55,44	2282	-	1,13
Não identificado	55,68	2290	-	3,48
Não identificado	60,43	2471	-	1,41

Não identificado	60,61	2479	-	1,33
Ftalato de di-octila	62,20	2542	-	6,55
Não identificado	62,44	2552	-	1,86
Não identificado	65,45	2657	-	3,94
Não identificado	67,41	2718	-	3,77
Total quantificado				99,33

TR (min.) – tempo de retenção em minutos.

IR_{calc} – índice de retenção calculado a partir dos tempos de retenção das substâncias eluídas por CG/EM e de uma série homóloga de hidrocarbonetos alifáticos saturados (C₈ a C₂₈).

IR_{lit} - índice de retenção da literatura (Adams, 1995).

Conc. (%) - Concentrações calculadas em % de área da análise por CG/EM.

(-) – índice de retenção não descrito na literatura de referência (Adams, 1995).

Quadro 4.: Composição da fração volátil das raízes do nabo com casca proveniente da Feira-livre adquirido em junho (NCFI).

Substância	TR (min.)	IR_{calc}	IR_{lit}	Conc. (%)
Isotiocianato de ciclopentila	9,84	1084	-	2,45
Isotiocianato de benzila	15,65	1122	-	0,39
Benzopropanonitrila	16,43	1241	-	1,22
Isotiocianato de 2-feniletila	26,16	1462	-	5,82
Isotiocianato de 5-(metiltio)-pentila	29,54	1543	-	0,60
N,4-dimeti-benzenesulfonamida	34,70	1673	-	0,47
Não identificado	38,05	1763	-	0,38
hexadecametil octasiloxano *	38,53	1776	-	0,42
Octadecano	40,81	1800	1800	0,60
Ftalato de di-butila	41,45	1856	-	4,92
Éster metílico do ác. hexadecanóico	43,75	1925	1927	1,13
Ftalato de dibutila	44,69	1953	-	1,01
Ácido hexadecanóico	45,30	1960	-	16,02
Eicosano	46,21	1996	2000	0,34
Heneicosano	49,32	2095	2100	1,42
Não identificado	50,77	2143	-	5,62
Não identificado	50,9	2148	-	2,91
Docosano	52,49	2200	-	1,44
Tricosano	55,49	2302	2300	4,34
hexadecametil octasiloxano *	56,40	2333	-	1,66
Adipato de di-isooctila	57,35	2386	-	1,56
Tetracosano	58,32	2398	2400	1,25
hexadecametil octasiloxano *	60,10	-	-	2,01
hexadecametil octasiloxano*	61,08	-	-	5,97
Pentacosano	61,85	2501	2500	6,81

Hexacosano	63,60	2599	-	2,25
Heptacosano	66,26	2701		1,72
Acetato de farnesila	68,95	-	-	1,37
Octacosano	71,13	-	-	0,98
Total quantificado				77,08

TR (min.) – tempo de retenção em minutos.

IR_{calc} – índice de retenção calculado a partir dos tempos de retenção das substâncias eluídas por CG/EM e de uma série homóloga de hidrocarbonetos alifáticos saturados (C₈ a C₂₈).

IR_{lit} - índice de retenção da literatura (Adams, 1995).

Conc. (%) - Concentrações calculadas em % de área da análise por CG/EM.

(-) – índice de retenção não descrito na literatura de referência (Adams, 1995).

(*) - isômeros identificados, mas não diferenciados.

Quadro 5: Composição da fração volátil das raízes do nabo sem casca proveniente da Feira-livre adquirido em junho (NSFI).

Substância	TR (min.)	IR _{calc}	IR _{lit}	Conc.(%)
Benzoacetaldeído	8,60	1042	1043	0,88
Isotiocianato de ciclopentila	9,88	1082	-	2,42
Undecano	10,49	1098	1099	1,03
Isotiocianato de benzila	15,61	1113		traços
Benzopropanonitrila	16,43	1238	-	1,45
6-(metiltio) hexanonitrila	19,79	1315	-	0,74
Isotiocianato de 2-feniletila	26,19	1463	-	19,5
Isotiocianato de 5-(metiltio)-pentila	29,56	1542	-	7,18
Ftalato de di-butila	41,46	1856	-	11,52
Palmitato de metila	43,76	1925	1927	1,55
Ftalato de di-butila	44,70	1953	-	2,13
Ácido hexadecanóico	45,15	1965	-	6,8
Hexadecametil octasiloxano*	52,48	2200	-	1,24
Não identificado	52,49	2200	-	1,59
Tricosano	55,48	2302	2300	1,32
Hexadecametil octasiloxano*	56,40	2333	-	1,89
Hexadecametil octasiloxano*	60,11	2464	-	2,44
Ftalato de di-octila	61,85	2531	-	10,60
Não identificado	68,95	-	-	5,10
Total quantificado				79,41

TR (min.) – tempo de retenção em minutos.

IR_{calc} – índice de retenção calculado a partir dos tempos de retenção das substâncias eluídas por CG/EM e de uma série homóloga de hidrocarbonetos alifáticos saturados (C₈ a C₂₈).

IR_{lit} - índice de retenção da literatura (Adams, 1995).

Conc. (%) - Concentrações calculadas em % de área da análise por CG/EM.

(-) – índice de retenção não descrito na literatura de referência (Adams, 1995).

(*) - isômeros identificados, mas não diferenciados.

Quadro 6: Derivados de glicosinolatos identificados fração volátil das raízes do nabo da Feira-livre adquirido em dezembro e em junho.

Substância	DEZEMBRO (%)		JULHO (%)	
	Com casca	Sem casca	Com casca	Sem casca
Isotiocianato de isopropila	1,34	traços	ND	ND
2-metil-5-hexanonitrila	21,41	21,64	ND	ND
Isotiocianato de <i>sec</i> -butila	19,88	1,06	ND	ND
Trissulfeto de dimetila	1,26	traços	ND	ND
Isotiocianato de 3-butenila	0,88	traços	ND	ND
Isotiocianato de ciclopentila	33,59	10,60	2,45	2,42
Isotiocianato de benzila	ND	ND	0,39	traços
Benzopropanonitrila	1,03	3,67	1,22	1,44
Isotiocianato de cicloexila	ND	1,19	ND	ND
6-(metiltio)-hexanonitrila	ND	ND	traços	0,76
Isotiocianato de 2-feniletila	15,03	15,49	5,81	19,5
Isotiocianato de 5-(metiltio)-pentila	ND	ND	0,67	7,12

(%) - Concentrações calculadas em % de área da análise por CG/EM.
 ND – não detectado

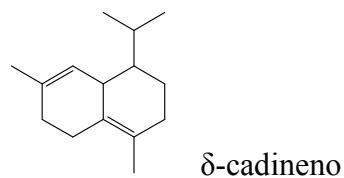
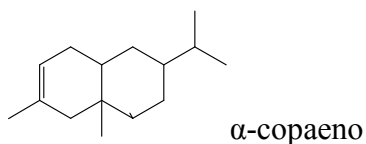
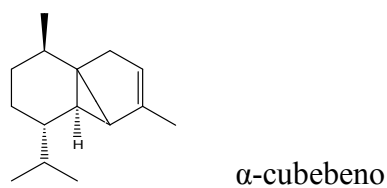
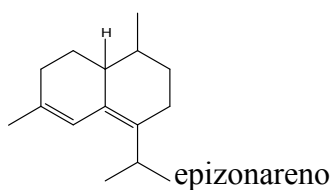


Figura 29: Sesquiterpenos identificados na fração volátil NSFV.

4.1.2 Amostras provenientes do Supermercado

4.1.2.1 Identificação de componentes das frações voláteis das raízes do nabo

Os Quadros 7 e 8 (páginas 70 e 71), mostram os resultados da composição e rendimento para o nabo com e sem casca, respectivamente, adquiridos em janeiro. Os rendimentos (concentrações) foram calculados em % de área da análise por CG-DIC, cujos cromatogramas encontram-se apresentados nas Figuras 45 e 47 (páginas 138 e 140 em Anexos).

O isotiocianato de 2-feniletila foi a substância que apresentou o maior percentual em todas as amostras analisadas procedentes do Supermercado, inclusive nas adquiridas em julho (Quadros 9 e 10, páginas 73 e 74). Com a retirada das cascas, verificou-se uma diminuição na sua concentração de 61,98% para 28,16%, na amostra adquirida em janeiro, e de 77,76% para 31,51%, na amostra obtida em julho (Quadro 11, página 75). Deve-se considerar a comprovada atividade anticarcinogênica desta substância (Stoewsand, 1995), já mencionada anteriormente, na proteção contra o câncer de esôfago, e o declínio significativo de suas concentrações com retirada da casca do nabo. Estes resultados sugerem uma possível diminuição das propriedades funcionais, relacionadas às atividades farmacológicas do isotiocianato em questão, com a operação utilizada.

A outra substância com atividade farmacológica comprovada, detectada nas amostras obtidas do Supermercado, foi o isotiocianato de 4-(metiltio)-butila (Figuras 98 e 104, páginas 181 e 185 em Anexos), conhecida também como erucina, em concentração de 1,12% no nabo com casca obtido em janeiro, que diminuiu para 0,92% com a retirada da mesma. Nas amostras adquiridas em julho, esta substância foi encontrada apenas em quantidade-traço (Quadro 11, página 75). De acordo com Barillari *et al.* (2005) a erucina e seu precursor, o

glicosinolato de 4-(metiltio)-butila, apresentam pronunciada atividade antioxidante. Fimognari *et al.* (2004) mostraram que a erucina induz, seletivamente, a apoptose em células humanas leucêmicas, o que não ocorre para linfócitos T normais. Os autores citam a erucina como um agente promissor na terapia do câncer. Esta substância não foi encontrada nas amostras de nabo provenientes da Feira-livre. É importante ressaltar que a erucina é o componente preponderante na rúcula, conforme será apresentado mais adiante.

A benzopropanonitrila, também detectada em concentração apreciável na amostra com casca coletada em janeiro (16,19%), teve sua concentração diminuída para 5,03%, após a operação pelo corte. Na amostra obtida em julho, a concentração caiu de 3,98% para 1,43%. O isotiocianato de 5-(metiltio)-pentila (Figuras 102 e 104, páginas 184 e 185 em Anexos) mostrou menor rendimento com a retirada da casca (5,26% para 4,60%, Quadros 9 e 10, páginas 73 e 74) na amostra adquirida no mês de julho. De forma contrária, a amostra adquirida no mês de janeiro apresentou aumento com a retirada da casca (6,88%, na amostra com casca e 8,91% na amostra sem casca) (Quadro 11, página 75).

Algumas substâncias, detectadas apenas nas amostras do mês de janeiro, tiveram suas concentrações aumentadas com a retirada da casca, como por exemplo, o 2-metil-5-hexenonitrila que passou de 2,23% para 14,25% e o isotiocianato de 3-butenila, que aumentou de 0,39% para apenas 0,89%. As demais substâncias não detectadas nas amostras adquiridas no inverno foram: trissulfeto de dimetila e os isotiocianatos de butila e de benzila (Quadro 11, página 75).

O isotiocianato de 3-fenilpropila (Figuras 91 e 104, páginas 177 e 185 em Anexos) apresentou aumento significativo com a retirada da casca nas amostras adquiridas em julho (1,02% para 16,0%). Nas amostras adquiridas em janeiro, esta substância foi detectada apenas nas porções com casca na proporção de 2,53%. O isotiocianato de 3-fenilpropila foi encontrado também na fração volátil do morango, e mostrou inibir a proliferação de células

cancerosas escamosas, em esôfago de ratos (Stoner *et al.*, 2007). Esta substância, assim como o isotiocianato de 6-(metiltio)-hexila (Figuras 93 e 104, páginas 178 e 186 em Anexos) e o ciclotiooctano (Figuras 99 e 104, páginas 182 e 186 em Anexos), não foram detectados nas amostras de nabo adquiridas na Feira-livre. O isotiocianato de 6-(metiltio)-hexila já havia sido identificado por Kjær e Schuster (1973) em sementes de *Erysimum rhaeticum* Schleich. ex DC., e considerado de importância para a classificação quimiotaxonômica da espécie na família Brassicaceae. A presença do ciclotiooctano foi descrita para a fração volátil de caule, folhas e flores de *Arabidopsis thaliana* (Rohloff e Bones, 2005) e das flores e folhas de *Eruca sativa* (Mastelic *et al.*, 2008).

Song e Thornalley (2007) verificaram que quando vegetais da família Brassicaceae são picados ocorre perda de até 75% dos glicosinolados presentes. Quanto maior o tempo de exposição após o fracionamento do vegetal, à temperatura ambiente, maior a perda dos glicosinolatos. Cerca de 30 a 50% desses glicosinolatos são convertidos para isotiocianatos, indicando que outros produtos de hidrólise são originados pela ação da enzima mirosinase. De acordo com os autores, alguns isotiocianatos de alta volatilidade, como o isotiocianato de alila, que não foi detectado nas amostras analisadas, podem sofrer perda por evaporação. De certo modo, conforme pode ser observado no Quadro 11 (página 75), as substâncias de menor tempo de retenção, ou seja, de maior volatilidade, apresentaram concentrações menores nas amostras analisadas ou não foram detectadas. É possível que o método de corte tenha contribuído para que determinadas substâncias não tenham sido detectadas. Entretanto, observou-se que o 2-metil-5-hexenonitrila e isotiocianato de 3-butenila, que eluem da coluna logo nos cinco primeiros minutos, tiveram suas concentrações aumentadas com a retirada da casca (Quadro 11, página 75).

Kjær *et al.* (1978) verificaram que os isotiocianatos são rapidamente catabolizados durante as diversas formas de manipulação. Segundo os autores, as diferenças nas

concentrações de isotiocianatos e nitrilas dependem, em parte, dos métodos de colheita e extração, concluindo que o perfil de voláteis de vegetais processados varia, significativamente, de acordo com os métodos empregados.

Outro fator que pode afetar o conteúdo de glicosinolatos nos vegetais crucíferos é a quantidade de enxofre e íons sulfato na solução nutriente para o cultivo dos vegetais. O íon sulfato participa nas etapas inicial e final da biossíntese do metabólito. A quantidade total de glicosinolatos e isotiocianatos aumenta com a aplicação de uma quantidade maior de sulfato. Da mesma forma, a carência de enxofre na solução nutriente causa uma deficiência no vegetal, influenciando na menor produção de glicosinolatos (Ishii, 1991), explicando, em parte, a diferença qualitativa em relação às amostras adquiridas na Feira-livre e no Supermercado, por serem de procedências diferentes. A comparação em termos quantitativos não será feita em função do uso de detectores diferentes para o cálculo das concentrações percentuais das amostras dos dois estabelecimentos: CG/EM para as amostras da Feira-livre e CG/DIC para aquelas do Supermercado.

As demais substâncias identificadas incluem o álcool 3-hexen-1-ol, benzoacetaldeído, hidrocarbonetos e ácidos graxos (palmítico, linoléico, linolênico e oléico).

Quadro 7: Composição da fração volátil das raízes do nabo com casca proveniente do Supermercado adquirido em janeiro (NCSV).

Substância	TR (min.)	IR _{calc}	IR _{lit}	Conc. (%)
3-hexen-1-ol	1,70	857	857	0,41
2-metil-5-hexenonitrila	2,59	872	-	2,23
2-metil-4-heptanona	3,31	918	923	0,36
Isotiocianato de butila	3,57	932	-	traços
Isotiocianato de 3-butenila	4,74	983	-	0,39
Benzoacetaldeído	6,52	1044	1043	1,00
Isotiocianato de ciclopentila	7,65	1081	-	4,57
Isotiocianato de benzila	8,89	1116	-	0,80
Benzopropanonitrila	13,89	1239	-	16,19
6-(metiltio)-hexanonitrila	17,09	1311	-	1,50
Isotiocianato de 4-(metiltio)-butila	21,84	1422	-	1,12
Isotiocianato de 2-feniletila	23,40	1459	-	61,98
Pentadecano	26,00	1500	1500	traços
Isotiocianato de 5-(metiltio)-pentila	26,66	1537	-	6,88
Isotiocianato de 6-(metiltio)-hexila	30,50	1646	-	traços
Ácido hexadecenóico	41,52	1936	-	0,46
Ácido hexadecanóico	42,27	1958	-	1,06
Ác. octadecadienóico (linoléico)	47,56	2127	-	0,41
Ác. octadecatrienóico (linolênico)	47,72	2133	-	0,58
Ácido octadecenóico (oléico)	48,00	2142	-	traços
Total quantificado				99,94

TR (min.) – tempo de retenção em minutos.

IR_{calc} – índice de retenção calculado a partir dos tempos de retenção das substâncias eluídas por CG-DIC e de uma série homóloga de hidrocarbonetos alifáticos saturados (C₈ a C₂₈).

IR_{lit} - índice de retenção da literatura (Adams, 1995).

Conc. (%) - Concentrações calculadas em % de área da análise por CG (DIC).

(-) – índice de retenção não descrito na literatura de referência (Adams, 1995).

Quadro 8: Composição da fração volátil das raízes do nabo sem casca proveniente do Supermercado adquirido em janeiro (NSSV).

Substância	TR (min.)	IR_{calc}	IR_{lit}	Conc. (%)
3-hexen-1-ol	1,64	854	857	1,19
2-metil-5-hexenonitrila	2,56	870	-	14,25
heptanal	3,14	909	899	0,60
Isotiocianato de butila	3,57	932	-	0,83
Trissulfeto de dimetila	3,90	958	-	traços
Isotiocianato de 3-butenila	4,68	982	-	0,89
Benzoacetaldeído	6,44	1040	1043	0,71
Isotiocianato de ciclopentila	7,63	1081	-	8,83
Isotiocianato de benzila	8,76	1112	-	0,56
Não identificado	9,17	1124	-	0,23
Não identificado	11,85	1190	-	0,33
Benzopropanonitrila	13,80	1237	-	5,03
decanol	15,20	1270	1272	0,44
Não identificado	15,81	1285	-	0,28
Não identificado	16,03	1297	-	0,27
6-(metiltio)-hexanonitrila	17,06	1311	-	1,82
dimetildodecano	17,23	1317	-	0,53
Não identificado	20,48	1389	-	0,36
Não identificado	20,67	1393	-	0,53
Isotiocianato de 4-(metiltio)-butila	21,81	1421	-	0,92
Isotiocianato de 2-feniletila	23,35	1458	-	28,16
dodecanol	24,30	1478	1473	0,27
Não identificado	24,89	1493	-	1,85
Pentadecano	25,23	1500	1500	0,19
Isotiocianato de 5-(metiltio)-pentila	26,68	1538	-	8,91
Isotiocianato de 3-fenilpropila	28,93	1592	-	2,53

Isotiocianato de 6-(metiltio)-hexila	30,50	1646	-	traços
Não identificado	32,82	1692		2,31
Octadeceno	36,52	1792	1793	1,17
Ftalato de di-isobutila	38,50	1850	-	0,86
Nonadecano	39,41	1895	1900	0,64
Ácido hexadecanóico (palmitico)	42,30	1960	-	1,58
Ciclotiooctano	43,40	1990	-	1,00
Eneicosano	46,17	2095	2100	0,85
Ác. Octadecadienóico (linoléico)	47,66	2130	-	0,34
Ác. Octadecatrienóico (linolênico)	47,85	2136	-	0,60
Ác. octadecenóico (oléico)	48,03	2143	-	0,40
Docosano	49,80	2200	2200	traços
Tricosano	52,70	2302	2300	1,30
Tetracosano	55,52	2400	2400	0,71
ftalato	58,05	2455	-	2,16
Pentacosano	60,04	2500	2500	0,26
Não identificado	62,84	2549	-	0,41
Total quantificado				95,10

TR (min.) – tempo de retenção em minutos.

IR_{calc} – índice de retenção calculado a partir dos tempos de retenção das substâncias eluídas por CG-DIC e de uma série homóloga de hidrocarbonetos alifáticos saturados (C₈ a C₂₈).

IR_{lit} - índice de retenção da literatura (Adams, 1995).

Conc. (%) - Concentrações calculadas em % de área da análise por CG (DIC).

(-) – índice de retenção não descrito na literatura de referência (Adams, 1995).

Quadro 9: Composição da fração volátil das raízes do nabo com casca proveniente do Supermercado adquirido em julho (NCSI).

Substância	TR (min.)	IR _{calc}	IR _{lit}	Conc. (%)
3-hexen-1-ol	1,70	857	857	traços
Isotiocianato de ciclopentila	7,63	1081	-	traços
Não identificado	11,90	1183	-	0,5
Benzopropanonitrila	13,82	1238	-	3,98
6-(metiltio)-hexanonitrila	17,06	1311		traços
Isotiocianato de 4-(metiltio)-butila	21,81	1421	-	traços
Isotiocianato de 2-feniletila	23,60	1460	-	77,76
Pentadecano	25,90	1500	1500	traços
Isotiocianato de 5-(metiltio)-pentila	26,70	1538	-	5,26
Isotiocianato de 3-fenilpropila	28,92	1592	-	1,02
Isotiocianato de 6-(metiltio)-hexila	30,70	1648	-	traços
Heptadecano	32,77	1700	1700	2,05
Octadeceno	36,51	1792	1793	2,06
Ácido hexadecanóico	42,36	1960	-	1,23
Ciclotiooctano	43,43	1990		1,64
Ác. octadecadienóico (linoléico)	47,50	2131	-	traços
Ác. octadecatrienóico (linolênico)	47,70	2137	-	traços
Octadecenóico	48,00	2142	-	traços
Pentacosano	59,88	2497	2500	traços
Hexacosano	66,05	2599	-	2,50
Total quantificado				97,50

TR (min.) – tempo de retenção em minutos.

IR_{calc} – índice de retenção calculado a partir dos tempos de retenção das substâncias eluídas por CG-DIC e de uma série homóloga de hidrocarbonetos alifáticos saturados (C₈ a C₂₈).

IR_{lit} - índice de retenção da literatura (Adams, 1995).

Conc. (%) - Concentrações calculadas em % de área da análise por CG (DIC).

(-) – índice de retenção não descrito na literatura de referência (Adams, 1995).

Quadro 10: Composição da fração volátil das raízes do nabo sem casca proveniente do Supermercado adquirido em julho (NSSI).

Substância	TR (min.)	IR_{calc}	IR_{lit}	Conc. (%)
3-hexen-1-ol	1,70	857	857	0,5
Isotiocianato de ciclopentila	7,63	1081	-	traços
Benzopropanonitrila	13,89	1238	-	1,43
6-(metiltio)-hexanonitrila	17,06	1311	-	0,20
Não identificado	20,68	1394	-	3,31
Isotiocianato de 4-(metiltio)-butila	21,81	1421	-	traços
Isotiocianato de 2-feniletila	23,19	1456	-	31,51
Não identificado	24,68	1488	-	3,43
Não identificado	24,80	1492	-	3,05
Isotiocianato de 5-(metiltio)-pentila	26,57	1535	-	4,60
Isotiocianato de 3-fenil propila	28,93	1592	-	16,0
Isotiocianato de 6-(metiltio)-hexila	30,70	1648	-	traços
Heptadecano	32,81	1701	1700	11,53
Octadeceno	36,52	1792	1793	8,11
Ftalato de di-isobutila	38,60	1850	-	0,20
Ácido hexadecanóico	42,33	1960	-	0,68
Ciclotiooctano	43,42	1990	-	7,48
Ác. octadecadienóico	47,50	2130	-	traços
Ác. octadetrienoico	47,70	2137	-	traços
Ác. octadecenóico	48,00	2142	-	traços
Tetracosano	55,52	2400	-	1,56
Não identificado	66,05	2608	-	2,50
Total quantificado				99,89

TR (min.) – tempo de retenção em minutos.

IR_{calc} – índice de retenção calculado a partir dos tempos de retenção das substâncias eluídas por CG-DIC e de uma série homóloga de hidrocarbonetos alifáticos saturados (C₈ a C₂₈).

IR_{lit} - índice de retenção da literatura (Adams, 1995).

Conc. (%) - Concentrações calculadas em % de área da análise por CG (DIC).

(-) – índice de retenção não descrito na literatura de referência (Adams, 1995).

Quadro 11: Derivados de glicosinolatos identificados das raízes do nabo proveniente do Supermercado adquirido em janeiro e em julho.

Substância	JANEIRO (%)		JULHO (%)	
	Com casca	Sem casca	Com casca	Sem casca
2-metil-5-hexenonitrila	2,23	14,25	ND	ND
Isotiocianato de butila	traços	0,83	ND	ND
Trissulfeto de dimetila	ND	traços	ND	ND
Isotiocianato de 3-butenila	0,39	0,89	ND	ND
Isotiocianato de ciclopentila	4,57	8,83	traços	traços
Isotiocianato de benzila	0,80	0,56%	ND	ND
Benzopropanonitrila	16,19	5,03	3,98	1,43
6-(metiltio)-hexanonitrila	1,50	1,82	traços	0,20
Isotiocianato de 4-(metiltio)-butila	1,12	0,92	traços	traços
Isotiocianato de 2-feniletila	61,98	28,16	77,76	31,51
Isotiocianato de 5-(metiltio)-pentila	6,88	8,91	5,26	4,60
Isotiocianato de 3-fenilpropila	ND	2,53	1,02	16,00
Isotiocianato de 6-(metiltio) hexila	traços	traços	traços	traços
Ciclotiooctano	ND	1,00	1,64	7,48

(%) - Concentrações calculadas em % de área da análise por CG-DIC.

ND – não detectada

4.1.3 Amostra proveniente do Hortifruti

4.1.3.1 Identificação de componentes das frações voláteis das raízes do nabo

As amostras dos nabos provenientes do Hortifruti foram adquiridas em fevereiro e em julho e os resultados das quantidades relativas e da composição para as frações voláteis obtidas por hidrodestilação das porções com e sem casca (NCHV, NSHV, NCHI e NSHI, respectivamente), encontram-se apresentados nos Quadros 12, 13, 14 e 15 (páginas 78 a 81) e, as quantidades relativas das amostras NCHV e NSHV, foram calculadas em % de área da análise por CG/EM (Figuras 52 e 53, páginas 145 e 146 em Anexos).

Na fração volátil do nabo adquirido em fevereiro, foram identificados 12 derivados de glicosinolatos na porção com casca e 11 na porção sem casca (Quadro 16, página 82). O componente majoritário na amostra NCHV foi o 2-metil-5-hexanonitrila (41,42% no nabo com casca), que apresentou redução considerável para 22,58% após a retirada da casca. As demais substâncias que apresentaram redução na concentração, após retirada da casca, foram os isotiocinatos de isopropila (de 0,66% para quantidade-traço), de *sec*-butila (de 9,33% para 2,08%), de 3-butenila (de 1,88% para quantidade-traço) e de ciclopentila (de 15,14% para 4,64%) e a octanonitrila (de 0,76% para quantidade-traço) (Figuras 95 e 96, página 180 em Anexos). O trissulfeto de dimetila, presente na concentração de 0,69% no nabo com casca, não foi detectado com a retirada da mesma.

A exemplo das amostras anteriores, obtidas de outros estabelecimentos, o isotiocianato de 2-feniletila está presente em altas concentrações nas frações da amostra obtida em fevereiro (18,16% na amostra com casca e 45,54% na amostra sem casca). De modo semelhante, a benzopropanonitrila, detectado a 6,11% na porção com casca e 11,72% na sem casca, 6-(metiltio)-hexanonitrila (1,06% na porção com casca e 3,54% na sem casca) e

isotiocianato de 5-(metiltio)-pentila (1,54% na porção com casca e 4,27% na sem casca), tiveram suas concentrações aumentadas com a retirada da casca, conforme mostra o Quadro 16 (página 82).

As amostras obtidas em julho, NCHI e NSHI, foram analisadas por CG/EM (cromatogramas das Figuras 55 e 57, páginas 148 e 150 em Anexos) e por CG-DIC (cromatogramas das Figuras 54 e 56, páginas 147 e 149 em Anexos), que, conforme pode ser observado apresentaram diferenças marcantes com relação à presença de derivados dos glicosinolatos. Os Quadros 14 e 15 (páginas 80 e 81) mostram a relação das substâncias tentativamente identificadas para as amostras analisadas por CG-DIC. Os percentuais relativos para esta análise não foram obtidos. Na porção com casca foram detectados os isotiocinatos de ciclopentila, de 4-(metiltio)-butila, de 2-feniletila e de 5-(metiltio)-pentila, além de benzopropanonitrila. Conforme pode ser observado nos cromatogramas das duas amostras e no Quadro 16, página 82, houve um aumento dos isotiocinatos de 4-(metiltio)-butila (de quantidade-traço para 0,40%), de 2-feniletila (de 18,16% para 45,54%) e de 5-(metiltio)-pentila (de 1,54% para 4,27%) com a retirada da casca. O mesmo pode ser observado para benzopropanonitrila, em alta concentração na porção com casca e que não foi detectada por CG-DIC, com a retirada da mesma. Conforme pode ser observado nos cromatogramas da amostra adquirida em julho (Figuras 55 e 57, páginas 148 e 150 em Anexos), obtidos pela análise por CG/EM, só foi possível detectar dois isotiocinatos: o isotiocianato de 2-feniletila (18,16% na porção com casca e 45,54% na porção sem casca) e o isotiocianato de 5-(metiltio)-pentila (1,54% na porção com casca e 4,27% na porção sem casca). Para os dois isotiocinatos, é possível observar um aumento considerável de suas concentrações com a retirada da casca.

Quadro 12: Composição da fração volátil do nabo com casca proveniente do Hortifruti adquirido em fevereiro (NCHV).

Substância	TR (min.)	IR_{calc}	IR_{lit}	Conc. (%)
Isotiocianato de isopropila	3,47	837	-	0,66
3-hexeno-1-ol	3,90	862	857	0,72
2-metil-5-hexenonitrila	4,16	876	-	41,42
Isotiocianato de <i>sec</i> -butila	5,62	939	-	9,33
Trissulfeto de dimetila	6,83	958	-	0,69
Isotiocianato de 3-butenila	7,23	985	-	1,88
Octanonitrila	9,55	1051	-	0,76
Isotiocianato de ciclopentila	11,17	1086	-	15,14
Benzopropanonitrila	18,49	1236	-	6,11
6-(metiltio)- hexanonitrila	21,87	1315	-	1,06
Isotiocianato de 4-(metiltio)-butila	24,7	1422	-	0,01
Isotiocianato de 2-feniletila	28,29	1457	-	18,16
Isotiocianato de 5-(metiltio)-pentila	31,52	1537	-	1,54
Ftalato de di-butila	42,97	1872	-	0,72
Ftalato de di-octila	61,99	2544	-	1,80
Total quantificado				100,00

TR (min.) – tempo de retenção em minutos.

IR_{calc} – índice de retenção calculado a partir dos tempos de retenção das substâncias eluídas por CG/EM e de uma série homóloga de hidrocarbonetos alifáticos saturados (C₈ a C₂₈).

IR_{lit} - índice de retenção da literatura (Adams, 1995).

Conc. (%) - Concentrações calculadas em % de área da análise por CG/EM.

(-) – índice de retenção não descrito na literatura de referência (Adams, 1995).

Quadro 13: Composição da fração volátil do nabo sem casca proveniente do Hortifruti adquirido em fevereiro (NSHV).

Substância	TR (min.)	IR _{calc}	IR _{lit}	Conc. (%)
Isotiocianato de isopropila	3,42	835	-	traços
3-hexeno-1-ol	3,93	861	857	traços
2-metil-5-hexenonitrila	4,09	872	-	22,58
Isotiocianato de <i>sec</i> -butila	5,60	938	-	2,08
Isotiocianato de 3-butenila	7,03	983	-	traços
Octanonitrila	9,50	1050	-	traços
Isotiocianato de ciclopentila	11,13	1086	-	4,64
Benzopropanonitrila	18,53	1237	-	11,72
6-(metiltio)-hexanonitrila	21,93	1331	-	3,54
Isotiocianato de 4-(metiltio)-butila	26,84	1424	-	0,46
Isotiocianato de 2-fenil etila	28,35	1459	-	45,54
Isotiocianato de 5-(metiltio)-pentila	31,60	1539	-	4,27
Não identificado	49,04	2062	-	0,99
Docosano	53,10	2201	2200	0,39
Tricosano	55,85	2301	2300	0,36
Pentacosano	61,15	2509	2500	2,43
Ftalato de dioctila	61,99	2544	-	1,00
Total quantificado				100,00

TR (min.) – tempo de retenção em minutos.

IR_{calc} – índice de retenção calculado a partir dos tempos de retenção das substâncias eluídas por CG/EM e de uma série homóloga de hidrocarbonetos alifáticos saturados (C₈ a C₂₈).

IR_{lit} - índice de retenção da literatura (Adams, 1995).

Conc. (%) - Concentrações calculadas em % de área da análise por CG/EM.

(-) – índice de retenção não descrito na literatura de referência (Adams, 1995).

Quadro 14: Composição da fração volátil do nabo com casca proveniente do Hortifruti adquirido em julho (NCHI).

Substância	TR (min.)	IR_{calc}	IR_{lit}
3-hexen-1-ol	1,70	862	857
Isotiocianato de ciclopentila	7,00	1083	-
Benzopropanonitrila	13,26	1234	-
Não identificado	16,32	1293	-
Isotiocianato de 4-(metiltio)-butila	21,00	1418	-
Isotiocianato de 2-feniletila	22,47	1454	-
Isotiocianato de 5-(metiltio)-pentila	25,70	1532	-

TR (min.) – tempo de retenção em minutos.

IR_{calc} – índice de retenção calculado a partir dos tempos de retenção das substâncias eluídas por CG-DIC e de uma série homóloga de hidrocarbonetos alifáticos saturados (C₈ a C₂₈).

IR_{lit} - índice de retenção da literatura (Adams, 1995).

(-) – índice de retenção não descrito na literatura de referência (Adams, 1995).

Quadro 15: Composição da fração volátil do nabo sem casca proveniente do Hortifruti adquirido em julho (NSHI).

Substância	TR (min.)	IR_{calc}	IR_{lit}
3-hexeno-1-ol	1,70	862	857
2-metil-5-hexenonitrila	2,62	873	-
Isotiocinato de sec-butila	3,75	940	-
Isotiocinato de ciclopentila	7,07	1085	-
Isotiocinato de benzila	8,80	1113	-
Não identificado	8,90	1116	-
Não identificado	11,87	1190	
Não identificado	16,51	1297	
Não identificado	18,12	1336	
Isotiocinato de 4-(metiltio)-butila	21,29	1417	-
Isotiocinato de 2-feniletila	22,15	1453	-
pentadecano	25,40	1505	1500
hexadecano	29,75	1608	1600

TR (min.) - tempo de retenção em minutos.

IR_{calc} - índice de retenção calculado a partir dos tempos de retenção das substâncias eluídas por CG-DIC e de uma série homóloga de hidrocarbonetos alifáticos saturados (C₈ a C₂₈).

IR_{lit} - índice de retenção da literatura (Adams, 1995).

(-) - índice de retenção não descrito na literatura de referência (Adams, 1995).

Quadro 16: Derivados de glicosinolatos detectados no nabo proveniente do Hortifruti adquirido em fevereiro.

Substância	FEVEREIRO (%)	
	Com casca	Sem casca
Isotiocianato de isopropila	0,66	traços
2-metil-5-hexenonitrila	41,42	22,58
Isotiocianato de <i>sec</i> -butila	9,33	2,08%
Trissulfeto de dimetila	0,69	ND
Isotiocianato de 3-butenila	1,88	traços
Octanonitrila	0,76	traços
Isotiocianato de ciclopentila	15,14	4,64
Benzopropanonitrila	6,11	11,72
6-(metiltio) hexanonitrila	1,06	3,54
Isotiocianato de 4-(metiltio)-butila	traços	0,4
Isotiocianato de 2-feniletila	18,16	45,54
Isotiocianato de 5-(metiltio)-pentila	1,54	4,27

(%) - Concentrações calculadas em % de área da análise por CG/EM.

ND - não detectada

4.1.1.2 Atividade antioxidante

As amostras de nabo, rabanete e rúcula, adquiridas nos estabelecimentos comerciais (Feira-livre, Supermercado e Hortifruti), apresentaram perfis semelhantes para a atividade antioxidante, portanto, será apresentado como modelo, neste trabalho, um exemplo de cada espécie e de cada estabelecimento.

A curva-padrão com o extrato de *Ginkgo biloba* EGb 761 em solução aquosa (Figura 30, abaixo), foi construída nas concentrações de 5, 10, 25, 50, 100 e 250 µg/ml, da qual obteve-se o coeficiente de correlação $R^2 = 0,9544$ e valores de $CE_{25} = 8,15 \pm 0,012$ µg/ml.

Ao se comparar os perfis dos gráficos e o valor de CE_{25} da curva-padrão com os das espécies estudadas, nota-se que a atividade antioxidante destas é consideravelmente inferior à do padrão de *Ginkgo biloba* utilizado.

A seguir encontram-se os gráficos correspondentes à atividade antioxidante do extrato aquoso do nabo, obtido na Feira-livre durante os meses de dezembro (Figura 31) e junho (Figura 32).

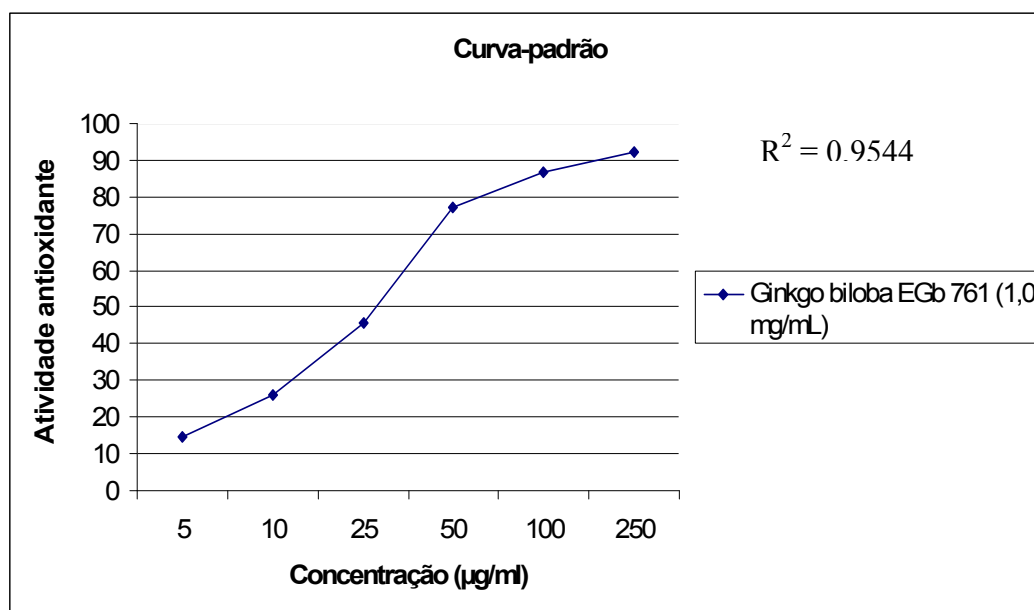


Figura 30: Gráfico da atividade antioxidante (%) versus concentração (µg/ml) do extrato aquoso do padrão de *Ginkgo biloba* EGb 761.

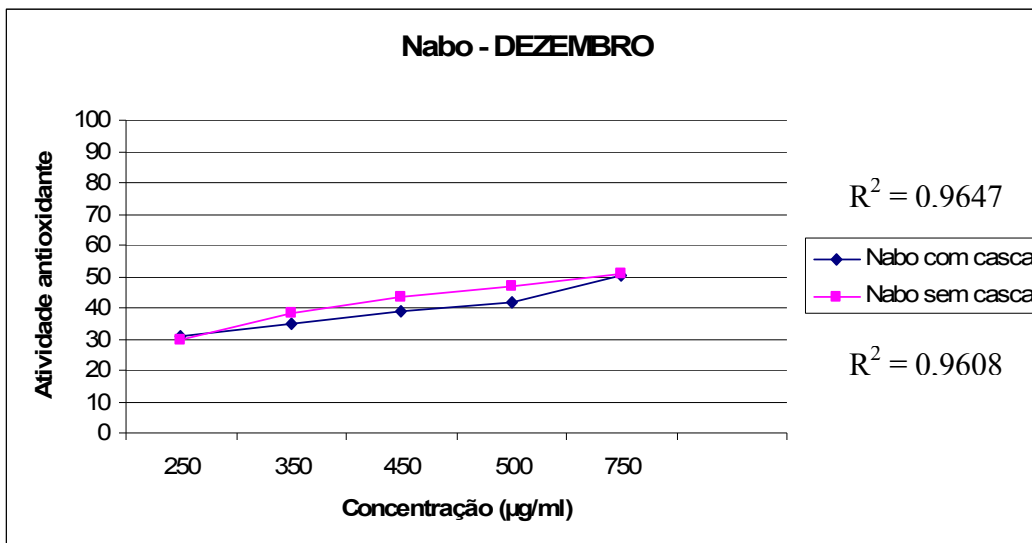


Figura 31: Gráfico da atividade antioxidante (%) versus concentração (µg/ml) de extrato aquoso de *Brassica rapa* L. (nabo) obtido na Feira-livre durante o mês de dezembro.

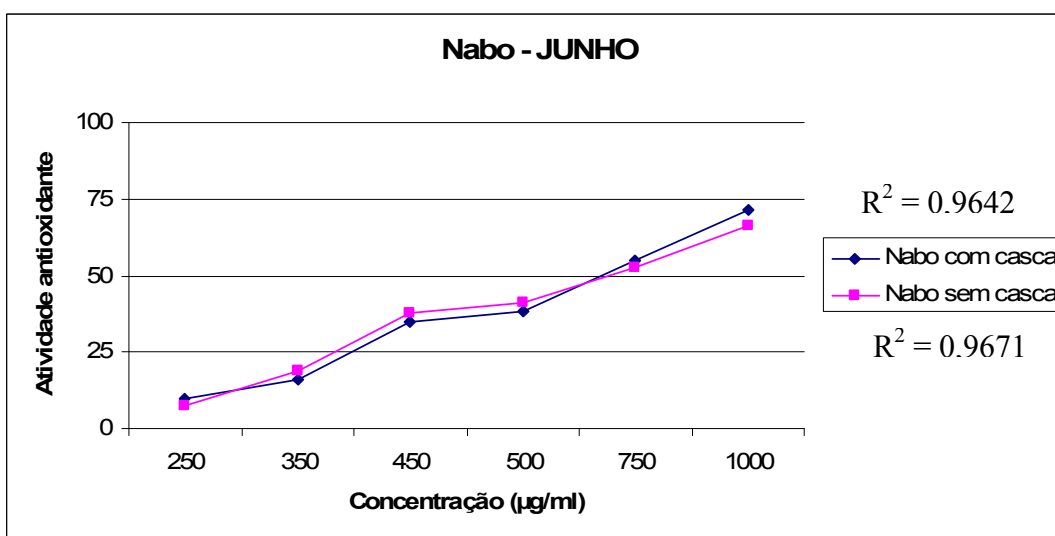


Figura 32: Gráfico da atividade antioxidante (%) versus concentração (µg/ml) de extrato aquoso de *Brassica rapa* L. (nabo) obtido na Feira-livre durante o mês de junho.

Observando-se as Figuras 31 e 32, é possível traçar perfis comparativos das atividades antioxidantes do nabo com e sem casca adquirido na Feira-livre durante os meses de

dezembro e junho, respectivamente, observando-se semelhança entre seus potenciais antioxidantes.

Fernandes *et al.* (2007) avaliaram a atividade antioxidante por DPPH• de talos, folhas, flores e raízes de *Brassica rapa* L.. Os autores verificaram que as flores e raízes apresentaram fraca atividade e aplicaram a CE₂₅ como medida de comparação entre as partes do vegetal, apesar da maioria dos trabalhos utilizar a CE₅₀. Com base nesta publicação, devido à atividade antioxidante pouco pronunciada das espécies utilizadas na presente dissertação, foram calculados valores de CE₂₅ para a avaliação da atividade antioxidante do nabo, da rúcula e do rabanete.

A amostra obtida em junho apresentou valores muito próximos de CE₂₅, sendo menor na amostra sem casca (CE₂₅ = 370,040 µg/ml ± 0,0015, R² = 0,9671) do que naquela com casca (CE₂₅ = 373,050 µg/ml ± 0,0025, R² = 0,9642) e superiores aos respectivos valores encontrados na amostra obtida em dezembro (CE₂₅ = 293,750 µg/ml ± 0,003 na porção com casca, R² = 0,9647 e CE₂₅ = 290,00 µg/ml ± 0,001, R² = 0,9608 na porção sem casca). As análises estatísticas, realizadas pelo teste t de Student, mostraram diferenças pequenas entre os métodos, com valores de p > 0,05 para as amostras das duas estações. A amostra coletada no inverno apresentou significância estatisticamente menor com a retirada da casca (p = 0,18) do que a coletada no verão (p = 0,074).

Os coeficientes de correlação R² > 0,8, considerados bons segundo Mensor *et al.* (2001), para todas as amostras de nabo, comprovam a relação boa e direta entre a atividade antioxidante e a concentração do extrato vegetal, conforme anteriormente observado em pesquisa da atividade antioxidante de tomates e derivados realizada por Borguini (2006).

Os resultados da atividade antioxidante das duas amostras são compatíveis com o teor de fenóis totais (Quadro 17, página 86), cujos valores encontrados em mg de equivalente

de ácido gálico/g, para as amostras de dezembro, são de $3,600 \pm 0,087$ mg/g para o nabo com casca e $3,900 \pm 0,081$ mg/g para o nabo sem casca, $p = 0,075$ e, para a amostra de junho, de $3,00 \pm 0,026$ mg/g para o nabo com casca e $3,050 \pm 0,030$ mg/g para o nabo sem casca ($p = 0,063$). Através dos valores de p , verifica-se que as diferenças dos resultados com a retirada da casca, nas duas estações, não são estatisticamente significativas.

Logo, pelos valores de CE_{25} e teores de fenóis totais, verifica-se que a atividade antioxidante da amostra coletada em dezembro mostra-se superior àquela coletada em junho. Estes dados confrontam com observações feitas por Lima *et al.* (2005) em frutos de acerola cultivados no nordeste brasileiro, em que o teor de fenóis totais mostrou-se maior quando colhidos na estação mais seca do ano (inverno), ao serem comparados aos colhidos na estação chuvosa (verão), tal como na amostra em estudo.

Quadro 17: Atividade antioxidante, expressa em $CE_{25} \pm$ desvio-padrão (D.P.) e teor de fenóis totais, expresso em miligramas de equivalente de ácido gálico por grama de amostra (mg/g), do nabo proveniente da Feira-livre durante os meses de dezembro e junho.

Amostra	DEZEMBRO		JUNHO	
	Atividade antioxidante ($CE_{25} \pm$ D. P.)	Teor de fenóis totais (mg de ácido gálico/g de amostra)	Atividade antioxidante ($CE_{25} \pm$ D. P.)	Teor de fenóis totais (mg de ácido gálico/g de amostra)
Nabo com casca	$293,75 \pm 0,003^a$	$3,600 \pm 0,087^a$	$373,050 \pm ,0025^a$	$3,001 \pm 0,026^a$
Nabo sem casca	$290,00 \pm 0,001^a$	$3,900 \pm 0,081^a$	$370,040 \pm ,0015^a$	$3,050 \pm 0,030^a$

*Os valores representam médias \pm desvio-padrão (D. P.) obtidos por meio de três determinações de atividade antioxidante e fenóis totais.

** CE_{25} : concentração (μ g/ml) de extrato necessária para exercer 25% de um efeito máximo estimado em 100%.

^aNão ocorreram diferenças estatisticamente significativas em nível de 5% ($p > 0,05$) entre as porções com e sem casca.

A composição de polifenóis em vegetais do gênero *Brassica* já foi descrita, incluindo *B. oleracea* var. *costata*, *B. oleracea* var. *acephala* e *B. rapa* var. *rapa*, bem como o potencial antioxidante destas espécies. Fernandes *et al.* (2007) verificaram, pelo método do DPPH, a eficácia antioxidante das substâncias fenólicas e dos ácidos orgânicos em *B. rapa*, sugerindo que a espécie constitui uma boa fonte dietética de componentes protetores contra doenças. Em seu estudo, os autores encontraram valores de CE₂₅ acima de 1.000 µg/ml para a atividade antioxidante das raízes do nabo, enquanto, na presente pesquisa, os valores de CE₂₅ encontram-se entre 290,0 µg/ml e 375,0 µg/ml. Logo, as amostras de nabo em estudo nesta dissertação, apresentam atividade antioxidante mais potente do que as da referida publicação.

4.2 A espécie *Eruca sativa* Mill. (rúcula)

4.2.1 Amostra proveniente do Supermercado

4.2.1.1 Identificação de componentes das frações voláteis das folhas de rúcula.

Os perfis cromatográficos das frações voláteis obtidas a partir das folhas não refrigeradas de rúcula (RFSV) e mantidas sob refrigeração durante seis dias a 6°C (RRSV), (Figuras 58 e 59, páginas 151 e 152 em Anexos), mostram um número pequeno de derivados de glicosinolatos para as amostras adquiridas no mês de março. O mesmo perfil é observado para as amostras adquiridas em julho (RFSI e RRSI, Figuras 61 e 63, páginas 154 e 156 em Anexos) quando analisadas por CG/EM. Entretanto, quando se utilizou um outro detector – DIC – foi possível a detecção de um número maior de derivados de glicosinolatos, conforme pode ser observado através dos cromatogramas da Figuras 60 e 62 (páginas 153 e 155 em Anexos). O Quadro 22 (página 95) apresenta um resumo dos isotiocianatos e derivados do

enxofre encontrados na fração volátil das folhas de rúcula adquiridas em março e em julho, provenientes do Supermercado. A composição da fração volátil das folhas não refrigeradas e refrigeradas, adquiridas nas diferentes estações, encontram-se listadas nos Quadros 18, 19, 20 e 21 (páginas 91 a 94).

O isotiocianato de 4-(metiltio)-butila ou erucina (Figuras 98 e 104, páginas 181 e 185 em Anexos), foi o derivado majoritário em todas as amostras de rúcula analisadas. A rúcula não refrigerada, obtida em março, apresentou alta concentração deste metabólito (35,18%). É possível verificar que com a refrigeração ocorreu uma diminuição da concentração do metabólito para 10,50% (Quadro 22, página 95). Em contrapartida, na amostra coletada em julho, observa-se, após um período sob refrigeração (seis dias), um aumento de sua quantidade, de 17,73% para 50,41%. É importante considerar o emprego de detectores diferentes (CG/EM e CG-DIC) na análise das amostras adquiridas em março e em julho. Conforme já foi visto anteriormente e também nos demais cromatogramas apresentados, os derivados dos glicosinolatos são melhor detectados quando se usa o detector de ionização por chama (D.I.C.) ao invés do detector de massas.

A presença marcante de contaminantes em todas as amostras, como ftalatos e adipatos, contribuiu para a diminuição da concentração, não só da erucina, mas de todos os demais derivados contidos nas frações voláteis, conforme pode ser observado nos cromatogramas obtidos por CG/EM (Figuras 58, 59, 61 e 63, páginas 151, 152, 154 e 156, em Anexos, e Quadros 18 e 19, páginas 91 e 92). Entretanto, o mesmo perfil não é observado para os cromatogramas obtidos por CG-DIC. O fato da amostra mantida sob refrigeração conter um número maior de substâncias derivadas dos glicosinolatos, sugere que, quando o vegetal é picado ainda gelado, ocorre uma menor perda dos constituintes voláteis, devido a uma menor volatilização dos mesmos.

A erucina, juntamente com o isotiocianato de 5-(metiltio)-pentila (detectado apenas na rúcula adquirida em julho nas concentrações de 0,17% na porção não refrigerada e quantidade-traço na porção refrigerada) (Figuras 60, 61, 62 e 63, páginas 153 a 156 em Anexos), já haviam sido identificados nas folhas desta espécie cultivada na Áustria, utilizando microextração em fase sólida (SPME – *solid phase microextraction*) e CG/EM (Jirovetz *et al.*, 2002). Os autores detectaram a erucina como componente majoritário na fração volátil das folhas e sementes da rúcula. Resultados semelhantes foram encontrados no presente trabalho e por Mastelic *et al.* (2008), Sarwar Alam *et al.* (2007), Barillari *et al.* (2005) e Mahran *et al.* (1992). É importante voltar a mencionar o alto poder antioxidante e anticarcinogênico da erucina descritos por Barillari *et al.* (2005) e Fimognari *et al.* (2004), conforme já mencionado no item 4.1.2.1. Além destes, vale citar o trabalho de Jirovetz *et al.* (2002), que atribuiu à erucina as características sensoriais, peculiares da rúcula. A erucina também já foi identificada em outras espécies de Brassicaceae, como por exemplo em *Raphanus sativus* L. por Blazevic e Mastelic (2008); *Brassica campestris* por Hashimoto e Kameoka (1985) e *Brassica rapa* por Hashimoto *et al.* (1982).

O isotiocianato de 2-feniletila, derivado encontrado em maior concentração em *B. rapa*, foi detectado somente na amostra obtida em julho nos teores de 0,60% na porção não refrigerada e quantidade-traço na refrigerada.

O derivado ciclotiooctano (Figuras 99 e 104, páginas 182 e 186 em Anexos), previamente identificado em flores e folhas de rúcula por Mastelic e Blazevic (2008), foi detectado apenas na amostra adquirida em julho nas concentrações de 0,27% na porção não refrigerada e 1,56% na porção refrigerada.

Foram ainda identificadas na porção não refrigerada da rúcula obtida em julho (Quadro 20, página 93), os isotiocianatos de 3-butenila (não quantificado), ciclopentila

(0,29%) e de benzila (0,33%), além da 2-metil-5-hexenonitrila (0,42%) e 1,6-hexanoditiol (9,11%).

As demais substâncias identificadas incluem o β -cubenol (0,37%) (Figura 33, página 96), encontrado somente na amostra não refrigerada em março; o hexanol (51,74%), em alta concentração, e o fitol (0,88%), (Figura 33, página 96), na amostra não refrigerada coletada no inverno; e o ácido hexadecanóico, encontrado em todas as amostras, exceto na amostra não refrigerada obtida em julho. Demais álcoois, como o 3-hexen-1-ol, undecanol, dodecanol e aldeídos como octanal e benzoacetaldeído, identificados em algumas amostras, são componentes comuns em vegetais processados e são gerados pela degradação oxidativa de ácidos graxos livres pela ação da lipoxigenase (Blazevic e Mastelic, 2008).

A seguir, encontram-se os Quadros com a composição e rendimento relativo das amostras de rúcula adquiridas em março e em julho.

Quadro 18: Composição da fração volátil das folhas de rúcula não refrigerada proveniente do Supermercado adquiridas em março (RFSV).

Substância	TR (min.)	IR _{calc}	IR _{lit}	Conc. (%)
Não identificado	13,05	1134	-	12,26
Isotiocianato de 4-(metiltio)-butila	26,87	1425	-	35,18
Não identificado	32,70	1588	-	1,02
β -cubenol	34,34	1631	1627	0,37
Ftalato de di-butila	42,90	1871	-	5,18
Octadecatrienal	45,87	1961	-	0,79
Ftalato	46,07	1965	-	2,73
Ácido hexadecanóico	46,69	1970	-	4,27
Ciclotiooctano	48,23	2057	-	0,27
Eneicosano	50,69	2109	2100	7,10
Não identificado	51,98	2150	-	1,37
Não identificado	52,18	2166	-	1,48
Docosano	52,97	2193	2200	0,32
Tricosano	55,92	2298	2300	2,38
Adipato de di-isooctila	58,46	2392	-	1,26
Pentacosano	61,12	2498	2500	2,76
Ftalato de di-octila	62,24	2543	-	15,33
Não identificada	63,27	2579	-	0,50
Heptacosano	66,40	2681	-	0,77
Não identificada	70,47	2805	-	1,33
Total quantificado				96,67

TR (min.) – tempo de retenção em minutos.

IR_{calc} – índice de retenção calculado a partir dos tempos de retenção das substâncias eluídas por CG/EM e de uma série homóloga de hidrocarbonetos alifáticos saturados (C₈ a C₂₈).

IR_{lit} - índice de retenção da literatura (Adams, 1995).

Conc. (%) – concentrações calculadas em % de área da análise por CG/EM.

(-) – índice de retenção não descrito na literatura de referência (Adams, 1995).

Quadro 19: Composição da fração volátil das folhas de rúcula refrigerada proveniente do Supermercado adquiridas em março (RRSV).

Substância	TR (min.)	IR _{calc}	IR _{lit}	Conc. (%)
3-hexen-1-ol	3,84	860	857	2,55
6-metil-5-hepteno-2-ona	7,06	988	985	traços
Octanal	7,96	1001	1001	1,81
Não identificado	13,11	1136	-	2,00
Isotiocianato de 4-(metiltio)-butila	26,65	1423	-	10,50
Não identificado	32,70	1588	-	1,18
Ftalato de di-butila	42,89	1870	-	4,21
Octadecatrienal	45,86	1961	-	0,75
Ácido hexadecanóico	46,71	1970	-	6,07
Ciclotiooctano	47,42	2032	-	1,56
Eneicosano	50,68	2109	2100	5,74
Não identificada	52,03	2161	-	3,38
Não identificada	52,18	2166	-	2,23
Não identificada	52,47	2175	-	0,82
Docosano	52,64	2182	2200	1,19
Tricosano	55,92	2298	2300	2,85
Tetracosano	58,55	2396	2400	0,88
Pentacosano	61,12	2498	2500	4,51
Ftalato de di-n-octila	62,39	2550	-	45,63
Heptacosano	66,40	2694	-	1,15
Nonacosano	74,06	2898	-	0,80
Total quantificado				99,81

TR (min.) – tempo de retenção em minutos.

IR_{calc} – índice de retenção calculado a partir dos tempos de retenção das substâncias eluídas por CG/EM e de uma série homóloga de hidrocarbonetos alifáticos saturados (C₈ a C₂₈).

IR_{lit} – índice de retenção da literatura (Adams, 1995).

Conc. (%) – concentrações calculadas em % de área da análise por CG/EM.

(-) – índice de retenção não descrito na literatura de referência (Adams, 1995).

Quadro 20: Composição da fração volátil das folhas de rúcula não refrigerada proveniente do Supermercado adquiridas em julho (RFSI).

Substância	TR (min.)	IR_{calc}	IR_{lit}	Conc. (%)
3-hexen-1-ol	1,66	856	857	0,35
Hexanol	2,51	865	867	51,74
2-metil-5-hexenonitrila	2,58	870	-	0,42
Não identificado	2,61	875	-	0,60
Isotiocianato de 3-butenila	~ 4,00	979	-	NQ
Octanal	5,28	1005	1001	9,27
Não identificado	5,48	1012	-	0,27
Benzoacetaldéido	6,40	1043	1043	0,21
Isotiocianato de ciclopentila	7,28	1079	-	0,29
Isotiocianato de benzila	8,41	1111	-	0,33
1,6-hexanoditiol	9,11	1122	-	9,11
Não identificado	9,81	1141	-	0,73
Dodecano	12,19	1197	1199	2,59
Não identificado	12,80	1212	-	0,16
Não identificado	18,17	1338	-	1,73
Undecanol	19,91	1376	1372	0,21
Isotiocianato de 4-(metiltio)-butila	21,99	1425	-	17,73
Isotiocianato de 2-feniletila	23,81	1468	-	0,60
dodecanol	23,94	1471	1473	0,21
Isotiocianato de 5-(metiltio)-pentila	28,38	1540	-	0,17
Acetato de farnesila	38,46	1848	1843	0,25
Éster metílico do ác. hexadecanóico	41,26	1928	1927	0,25
Fitol	42,26	1955	1949	0,88
Eneicosano	46,81	2101	2100	0,85
Não identificado	47,33	2119	-	0,36

Éster metílico do ác. octadecanóico	47,74	2133	2128	0,37
Ftalato	58,00	2453	-	0,18
Não identificado	62,94	2553	-	0,47
Total quantificado				99,85

TR (min.) – tempo de retenção em minutos.

IR_{calc} – índice de retenção calculado a partir dos tempos de retenção das substâncias analisadas por CG-DIC e de uma série homóloga de hidrocarbonetos alifáticos saturados (C₈ a C₂₈).

IR_{lit} - índice de retenção da literatura (Adams, 1995).

Conc. (%) – concentrações calculadas em % de área da análise por CG-DIC

(-) – índice de retenção não descrito na literatura de referência (Adams, 1995).

NQ – não quantificada.

Quadro 21: Composição da fração volátil das folhas de rúcula refrigerada proveniente do Supermercado adquiridas em julho (RRSI).

Substância	TR (min.)	IR _{calc}	IR _{lit}	Conc. (%)
3-hexen-1-ol	1,66	856	857	traços
Hexanol	2,50	865	867	traços
Isotiocianato de 3-butenila	4,00	979	-	traços
Não identificado	5,48	1012	-	traços
Benzoacetaldeído	6,40	1044	-	NQ
Isotiocianato de ciclopentila	7,20	1079	-	NQ
Isotiocianato de benzila	8,40	1111	-	traços
1,6-hexanoditiol	9,10	1121	-	traços
Dodecano	12,19	1197	1199	3,37
Não identificado	18,10	1336	-	NQ
Isotiocianato de 4-(metiltio)-butila	22,10	1424	-	50,41
Isotiocianato de 2-feniletila	23,80	1468	-	NQ
Isotiocianato de 5-(metiltio)-pentila	28,30	1540	-	traços
Não identificado	37,80	1829	-	NQ
Acetato de farnesila	38,40	1846	1843	NQ
Éster metílico do ác. hexadecanóico	41,43	1933	1927	2,87
Ácido hexadecanóico	42,47	1963	-	5,59

Não identificado	42,59	1969	-	7,49
Eneicosano	46,85	2103	2100	4,85
Ácido octadecatrienóico	47,72	2133	-	1,93
Ácido octadecenóico	47,95	2140	-	3,39
Tricosano	52,66	2301	2300	1,46
Ftalato de di-octila	58,07	2455	-	5,41
Não identificado	63,01	2555	-	11,10
Não identificado	67,51	2652	-	2,13
Total quantificado				100,00

TR (min.) – tempo de retenção em minutos.

IR_{calc} – índice de retenção calculado a partir dos tempos de retenção das substâncias analisadas por CG-DIC e de uma série homóloga de hidrocarbonetos alifáticos saturados (C₈ a C₂₈).

IR_{lit} - índice de retenção da literatura (Adams, 1995).

Conc. (%) – concentrações calculadas em % de área da análise por CG-DIC.

(-) – índice de retenção não descrito na literatura de referência (Adams, 1995).

NQ – não quantificado

Quadro 22: Derivados de glicosinolatos detectados nas folhas de rúcula provenientes do Supermercado adquiridas março e em julho.

Substância	MARÇO (%) ^a		JULHO (%) ^b	
	Não refrigerada	Refrigerada	Não refrigerada	Refrigerada
2-metil-5-hexanonitrila	ND	ND	0,42	ND
Isotiocianato de 3-butenila	ND	ND	NQ	traços
Isotiocianato de ciclopentila	ND	ND	0,29	NQ
Isotiocianato de benzila	ND	ND	0,33	traços
1,6-hexanoditíol	ND	ND	9,11	traços
Isotiocianato de 4-(metiltio)-butila	35,18	10,50	17,73	50,41
Isotiocianato de 2-feniletila	ND	ND	0,60	traços
Isotiocianato de 5-(metiltio)-pentila	ND	ND	0,17	traços
Ciclotiooctano	ND	ND	0,27	1,56

(%)^a - Concentrações calculadas em % de área da análise por CG/EM.

(%)^b - Concentrações calculadas em % de área da análise por CG-DIC.

ND - não detectado

NQ – não quantificado

Koukonaras *et al.* (2007) descreveram que as folhas de rúcula são melhor conservadas sob refrigeração a 0°C por, no máximo, 16 dias. A esta temperatura há melhor preservação da taxa respiratória das folhas (produção de CO₂ e etileno) e dos teores de sólidos solúveis, fenóis totais e nitratos. Os autores verificaram, também, que, a 5°C foi observada uma ligeira deterioração e a vida útil do vegetal foi reduzida em três dias. Já a 10°C, as folhas de rúcula deterioraram-se rapidamente, com a degradação da clorofila, causando o amarelamento das folhas e reduzindo a vida útil do vegetal para apenas oito dias.

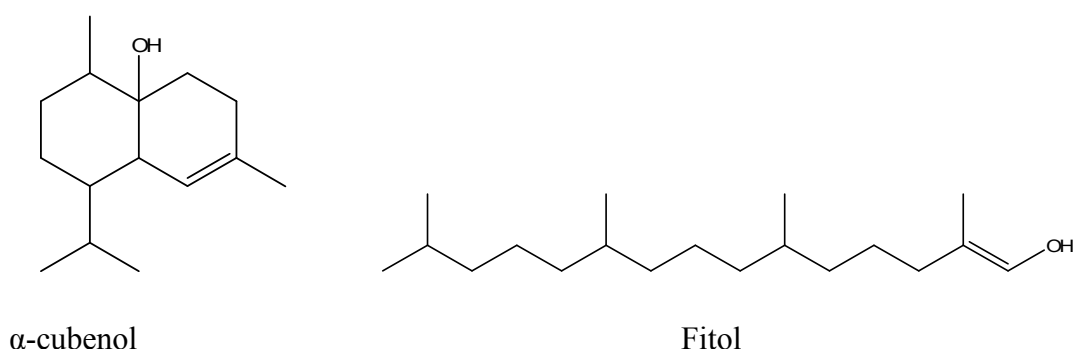


Figura 33: Estruturas químicas dos terpenos α -cubenol e fitol detectados na rúcula adquirida no Supermercado.

4.2.2 Amostra proveniente do Hortifruti

4.2.2.1 Identificação de componentes das frações voláteis das folhas de rúcula

Os perfis cromatográficos das frações voláteis, obtidas a partir das folhas de rúcula não refrigerada (RFHV) e refrigerada durante seis dias a 6°C (RRHV), (Figuras 64 e 65, páginas 157 e 158 em Anexos), mostram uma simplicidade na composição das amostras, quando analisadas por CG/EM ou CG. Basicamente, todas as frações provenientes do Hortifruti, são compostas principalmente por derivados de glicosinolatos e hidrocarbonetos, conforme pode ser observado nos Quadros 23, 24, 25 e 26 (páginas 99 a 101). As frações obtidas nas extrações realizadas março foram analisadas apenas por CG/EM. O Quadro 27

(página 103) apresenta um resumo dos isotiocianatos e outros derivados do enxofre encontrados na fração volátil das folhas de rúcula adquiridas em março e em julho, provenientes do Hortifruti.

A exemplo do que foi observado nas amostras provenientes do Supermercado, o componente majoritário presente em todas as frações analisadas do Hortifruti foi o isotiocianato de 4-(metiltio)-butila ou erucina. Em março, a sua concentração no vegetal passa de 28,64% para 49,77%, após a refrigeração, de acordo com os cromatogramas obtidos por CG/EM das Figuras 64 e 65, páginas 157 e 158 em Anexos. Entretanto, conforme pode ser visto no Quadro 27 (página 103), ocorre um processo inverso para a amostra do mês de julho, com diminuição da concentração de 41,39% para 27,93% após a refrigeração. Os dados mostram que há uma redução considerável na concentração do isotiocianato na amostra adquirida em julho. Jirovetz *et al.* (2002), identificaram a erucina como o principal componente da rúcula (14,2%) em amostra coletada na Áustria no mês de março.

Na amostra não refrigerada de março (Quadro 23, página 99), foi encontrado também o 1,6-hexanoditiol (13,45%) e o isotiocianato de 4-metil-pentila (0,48%) (Figuras 100, 101 e 104, páginas 183 e 186 em Anexos), não detectados nas demais frações. Este último foi identificado por Blazevic e Mastelic (2008) e Rohloff e Bones (2005), em *Arabidopsis thaliana* como sendo um dos responsáveis pelos mecanismos de interação e defesa entre planta e insetos. O 1,6-hexanoditiol, não encontrado na espécie até o momento, é usado como matriz de revestimento de nanopartículas, podendo ser um contaminante (Sivanesan *et al.*, 2007).

A tetraidrotiofenona, à exceção da amostra refrigerada do mês de março, foi identificada em todas as demais. A fração RFHI, analisada por CG-DIC, apresentou a maior concentração (4,53%). Esta substância foi encontrada por Jirovetz *et al.* (2002) nas folhas de rúcula cultivada na Áustria. A 6-(metiltio)-hexanonitrila e o isotiocianato de 5-(metiltio)-

pentila ou berteroína, também já identificados na rúcula pelos mesmos pesquisadores, foram detectados em quantidades-traço na amostra não refrigerada do verão e refrigerada de julho, respectivamente, conforme pode ser observado no Quadro 27, página 103.

A β -ionona (Figura 34, abaixo), detectada na RFHV e RRHV, foi previamente identificada por Mastelic *et al.* (2008) em folhas de rúcula e por Blazevic e Mastelic (2008), em folhas de rabanete.

Foram identificados ainda álcoois, cetonas, ácidos graxos e hidrocarbonetos em diferentes frações.

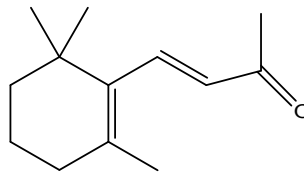


Figura 34: β -ionona

Quadro 23: Composição da fração volátil das folhas de rúcula não refrigerada proveniente do Hortifruti, adquiridas em março (RFHV).

Substância	TR (min.)	IR _{calc}	IR _{lit}	Conc. (%)
3-hexen-1-ol	3,87	860	857	14,28
Decano	7,15	997	999	0,64
Acetato de 3-hexen-1-ol	7,96	1008	1004	0,95
1,6-hexanoditiol	13,08	1124	-	13,45
Tetraidrotofeno	13,97	1153	-	0,97
Isotiocianato de 4-metilpentila	14,44	1164	-	0,48
6-(metiltio)-hexanonitrila	16,46	1310	-	traços
Isotiocianato de 4-(metiltio)-butila	26,83	1423	-	28,64
β -ionona	28,55	1486	1485	traços
Não identificada	39,68	1762	-	0,58
Ftalato de dibutila	42,96	1871	-	2,35
Hexadecametil-octa-siloxano	44,56	1919	-	1,28
Não identificada	48,98	2059	-	1,69
Não identificada	52,95	2192	-	2,14
Tricosano	55,91	2299	2300	1,83
Não identificada	56,59	2324	-	2,77
Adipato de di-octila	58,44	2393	-	3,32
Tetracosano	58,54	2397	2400	0,83
Não identificada	59,98	2456	-	3,46
Pentacosano	61,08	2500	2500	5,41
Não identificada	62,09	2542	-	6,64
Total quantificado				91,71

TR (min.) – tempo de retenção em minutos.

IR_{calc} – índice de retenção calculado a partir dos tempos de retenção das substâncias analisadas por CG/EM e de uma série homóloga de hidrocarbonetos alifáticos saturados (C₈ a C₂₈).

IR_{lit} - índice de retenção da literatura (Adams, 1995).

Conc. (%) - Concentrações calculadas em % de área da análise por CG/EM.

(-) – índice de retenção não descrito na literatura de referência (Adams, 1995).

Quadro 24: Composição da fração volátil das folhas de rúcula refrigerada provenientes do Hortifruti, adquiridas em março (RRHV).

Substância	TR (min.)	IR_{calc}	IR_{lit}	Conc. (%)
Decano	7,16	997	999	2,31
Isotiocianato de 4-(metiltio)-butila	26,73	1421	-	49,77
β -ionona	28,55	1483	1485	4,14
Tricosano	55,93	2299	2300	5,87
Tetracosano	58,56	2398	2400	1,91
Pentacosano	61,08	2500	2500	14,74
Não identificada	62,11	2542	-	21,26
Total quantificado				100,00

TR (min.) – tempo de retenção em minutos.

IR_{calc} – índice de retenção calculado a partir dos tempos de retenção das substâncias analisadas por CG/EM e de uma série homóloga de hidrocarbonetos alifáticos saturados (C₈ a C₂₈).

IR_{lit} - índice de retenção da literatura (Adams, 1995).

Conc. (%) - Concentrações calculadas em % de área da análise por CG/EM.

(-) – índice de retenção não descrito na literatura de referência (Adams, 1995).

Quadro 25: Composição da fração volátil das folhas de rúcula não refrigeradas provenientes do Hortifruti, adquiridas em julho (RFHI).

Substância	TR (min.)	IR_{calc}	IR_{lit}	Conc. (%)
3-hexen-1-ol	2,37	855	857	40,96
Decano	5,05	996	999	4,77
Não identificado	8,61	1106	-	3,63
Tetraidrotofênona	10,96	1156	-	4,53
Decanona	11,71	1186	1186	2,73
Isotiocianato de 4-(metiltio)-butila	21,24	1420	-	41,39
nonadecano	39,45	1896	1900	1,99
Total quantificado				100,00

TR (min.) – tempo de retenção em minutos.

IR_{calc} – índice de retenção calculado a partir dos tempos de retenção das substâncias eluídas por CG-DIC e de uma série homóloga de hidrocarbonetos alifáticos saturados (C₈ a C₂₈).

IR_{lit} - índice de retenção da literatura (Adams, 1995).

Conc (%) – concentrações calculadas em % de área da análise por CG-DIC.

(-) – índice de retenção não descrito na literatura de referência (Adams, 1995).

Quadro 26: Composição da fração volátil das folhas de rúcula refrigeradas proveniente do Hortifruti adquiridas em julho (RRHI).

Substância	TR (min.)	IR_{calc}	IR_{lit}	Conc. (%)
3-hexen-1-ol	2,38	855	857	2,20
Tetraidrotiofenona	10,02	1154	1156	0,47
Decanona	11,79	1188	1186	0,51
Tetradecano	20,04	1390	1399	1,37
Isotiocianato de 4-(metiltio)-butila	21,16	1423	-	27,93
Pentadecano	25,37	1507	1500	0,66
Éster metílico do ác. dodecanóico	25,75	1516	1525	0,53
Isotiocianato de 5-(metiltio)-pentila	25,94	1578	-	traços
Hexadecano	29,27	1600	1600	1,57
Não identificado	30,46	1632	-	0,85
Não identificado	32,85	1694	1697	1,85
Farnesol	33,01	1697	1697	1,02
heptadecano	33,32	1704	1700	1,09
Farnesol (isômero)	33,46	1709	1713	1,74
Éster metílico do ác. tetradecanóico	34,25	1730	1726	0,68
Não identificado	35,09	1754	-	0,99
Pentadecanol	35,67	1772	1778	0,45
Octadeceno	36,42	1791	1793	1,05
Octacosano	37,09	1808	1800	1,02
Não identificado	37,66	1825	-	3,11
Não identificado	37,90	1832	-	0,84
Ftalato de di-isobutila	38,66	1854	-	0,53
Hexadecanol	39,46	1877	1879	4,06
Não identificado	40,13	1895	-	1,30
Nonadecano	40,40	1903	1900	0,51
Éster metílico do ác. hexadecanóico	41,30	1929	1927	6,89

Não identificado	44,74	2033	-	1,05
Não identificado	45,93	2072	-	1,14
Eneicosano	46,80	2101	2100	0,65
Ác. octadecadienóico	47,65	2128	-	0,45
Não identificado	48,95	2169	-	1,37
Tricosano	52,84	2307	2300	2,01
Não identificado	56,51	2422	-	2,62
Hexadecametil octasiloxano	56,99	2432	-	0,82
Pentacosano	59,98	2494	-	3,37
Não identificado	62,23	2540	-	1,82
Não identificado	63,23	2559	-	3,32
Hexacosano	64,85	2590	-	0,57
Não identificado	66,28	2623	-	3,76
Heptacosano	69,16	2691	-	3,64
Não identificado	72,06	2750	-	3,17
Total quantificado				92,98

TR (min.) – tempo de retenção em minutos.

IR_{calc} – índice de retenção calculado a partir dos tempos de retenção das substâncias eluídas por CG-DIC e de uma série homóloga de hidrocarbonetos alifáticos saturados (C₈ a C₂₈).

IR_{lit} - índice de retenção da literatura (Adams, 1995).

Conc (%) – concentrações calculadas em % de área da análise por CG-DIC.

(-) – índice de retenção não descrito na literatura de referência (Adams, 1995).

Quadro 27: Derivados de glicosinolatos detectados em rúcula coletada no Hortifruti em março e em julho.

Substância	MARÇO (%) ^a		JULHO (%) ^b	
	Não refrigerada	Refrigerada	Não refrigerada	Refrigerada
1,6-hexanoditiol	13,45	ND	ND	ND
Tetraidrotiofenona	0,97	ND	4,53	0,47
Isotiocianato de 4-metil-pentila	0,48	ND	traços	traços
6-(metiltio) hexanonitrila	traços	ND	ND	ND
Isotiocianato de 4-(metiltio)-butila	28,64	49,77	41,39	27,93
Isotiocianato de 5-(metiltio)-pentila	ND	ND	ND	traços

(%)^a - Concentrações calculadas em % de área da análise por CG/EM.

(%)^b - Concentrações calculadas em % de área da análise por CG-DIC.

ND - não detectada

4.2.1.2 Atividade antioxidante

A amostra obtida em março mostrou um perfil diferenciado para a atividade antioxidante (Figura 35, página 105) e teor de fenóis totais, em relação à coletada em julho. Para a amostra coletada em março, a porção não refrigerada apresentou CE_{25} maior ($93,000 \pm 0,002 \mu\text{g/ml}$, $R^2 = 0,9944$) e teor de fenóis totais menor ($4,000 \pm 0,110$ mg de equivalente de ácido gálico/g) em relação à porção refrigerada ($CE_{25} = 87,000 \pm 0,0004 \mu\text{g/ml}$, $R^2 = 0,9749$ e $5,400 \pm 0,150$ mg de equivalente de ácido gálico/g). De modo inverso, a amostra coletada em julho (Figura 36, página 105) apresentou valores para $CE_{25} = 185,350 \pm 0,0094 \mu\text{g/ml}$, $R^2 = 0,7745$ e $4,150 \pm 0,088$ mg de equivalente de ácido gálico/g, na porção não refrigerada, e $CE_{25} = 527,500 \pm 0,002 \mu\text{g/ml}$, $R^2 = 0,9680$ e $3,800 \pm 0,089$ mg de equivalente de ácido gálico/g na porção refrigerada (Quadro 28, página 106).

Os resultados encontrados apontam para um potencial antioxidante maior para a amostra de rúcula coletada em março, cujos valores de CE_{25} são menores. A comparação estatística entre os processamentos mostrou que não há diferença para a atividade antioxidante

nas porções não refrigerada e refrigerada ($p = 0,10$), enquanto, para a amostra adquirida em julho, houve diferença estatisticamente significativa com a refrigeração ($p = 0,037$) (Quadro 28).

Os teores de fenóis totais estão compatíveis com as respectivas atividades antioxidantes (Quadro 28, página 106), sendo maiores na amostra obtida em março, com diferença estatisticamente significativa entre as porções não refrigerada e refrigerada, ($p = 0,043$). Para as amostras de rúcula coletada em julho, os valores determinados apresentaram nível de significância baixo ($p = 0,068$) entre as mesmas, conforme mostra o Quadro 28.

À exceção da porção não refrigerada da rúcula coletada no inverno, os coeficientes de correlação encontrados nas demais amostras são considerados bons ($R^2 > 0,8$), indicando uma relação dependente da dose para o seqüestro do radical DPPH•, conforme anteriormente observado por Sarwar Alam *et al.* (2007) no extrato etanólico das sementes de *Eruca sativa*.

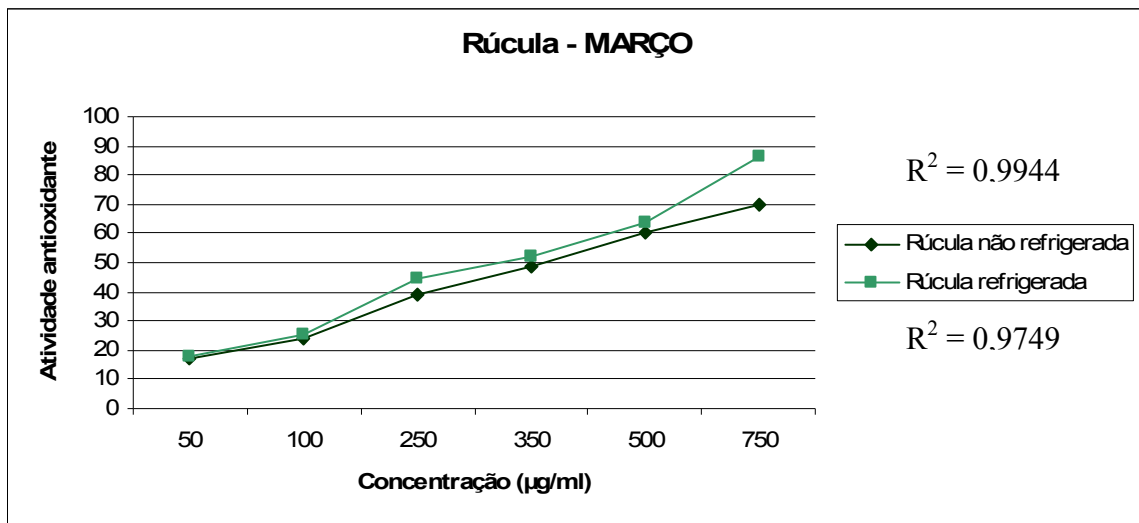


Figura 35: Gráfico da atividade antioxidante (%) versus concentração (µg/ml) de extrato metanólico de *Eruca sativa* Mill. (rúcula) obtida no Supermercado no mês de março.

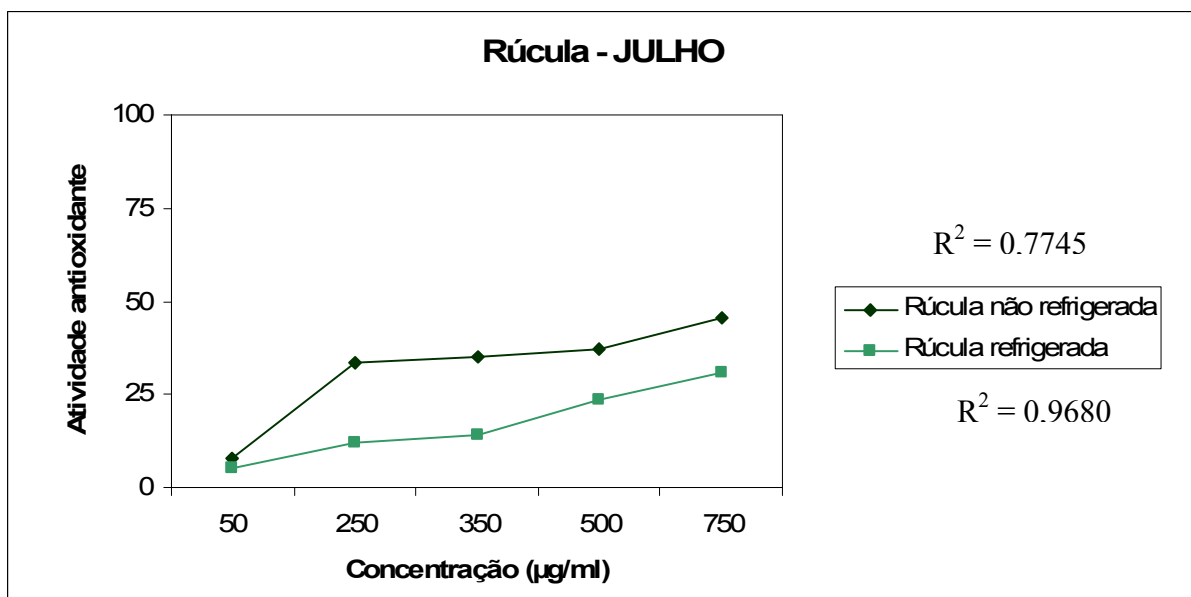


Figura 36: Gráfico da atividade antioxidante (%) versus concentração (µg/ml) de extrato metanólico de *Eruca sativa* Mill. (rúcula) obtida no Supermercado no mês de julho.

Quadro 28: Atividade antioxidante, expressa em $CE_{25} \pm$ desvio-padrão (D.P.) e teor de fenóis totais, expresso em miligramas de equivalente de ácido gálico por grama de amostra (mg/g), da rúcula proveniente do Supermercado durante os meses de março e julho.

Amostra	MARÇO		JULHO	
	Atividade antioxidante ($CE_{25} \pm$ D. P.)	Teor de fenóis totais (mg de ácido gálico/g de amostra)	Atividade antioxidante ($CE_{25} \pm$ D. P.)	Teor de fenóis totais (mg de ácido gálico/g de amostra)
Rúcula não refrigerada	$93,000 \pm 0,002^a$	$4,000 \pm 0,110^a$	$185,350 \pm 0,009^b$	$4,150 \pm 0,088^b$
Rúcula refrigerada	$87,000 \pm 0,0004^a$	$5,400 \pm 0,150^a$	$527,500 \pm 0,002^b$	$3,80 \pm 0,089^b$

*Os valores representam médias \pm desvio-padrão (D. P.) obtidos por meio de três determinações de atividade antioxidante e fenóis totais.

** CE_{25} : concentração (μ g/ml) de extrato necessária para exercer 25% de um efeito máximo estimado em 100%.

^aNão ocorreram diferenças estatisticamente significativas em nível de 5% ($p > 0,05$) entre as porções não refrigerada e refrigerada.

^bOcorreram diferenças estatisticamente significativas em nível de 5% ($p < 0,05$) entre as porções não refrigerada e refrigerada.

Barillari *et al.* (2005) verificaram que a glicocerucina e a erucina possuem uma boa atividade antioxidante direta como agentes seqüestrantes de hidroperóxidos das células e sangue, além de atuar como precursor do sulforafano por reação de oxi-redução com espécies reativas de oxigênio, como hidroperóxidos de alquila e peróxido de hidrogênio. Koukonaras *et al.* (2007) verificaram que o teor de fenóis totais e a capacidade seqüestrante do DPPH• das folhas de rúcula estão diretamente relacionados à idade e à permanência no refrigerador. Os autores observaram que quanto mais jovens forem as folhas e menores a temperatura e o tempo de refrigeração, maiores são os teores de fenóis totais e a capacidade seqüestrante do radical. Entretanto, o que se observa no presente estudo é a ocorrência de um comportamento contrário, em que a porção refrigerada das folhas da amostra coletada no verão mostrou atividade antioxidante mais pronunciada do que a não refrigerada, provavelmente devido à perda de umidade observada após o período de refrigeração, levando à concentração dos

componentes da matriz. As amostras do verão e do inverno foram acondicionadas em recipiente hermético para serem refrigeradas.

Sarwar Alam *et al.* (2007) constataram que a quantidade elevada de substâncias fenólicas, também encontradas no extrato alcoólico das sementes de rúcula, explicam sua pronunciada capacidade seqüestrante do radical DPPH•.

4.3 A espécie *Raphanus sativus* L. (rabanete)

4.3.1 Identificação da fração volátil das raízes do rabanete

Apenas as amostras adquiridas no Hortifruti foram incluídas neste trabalho. As demais provenientes dos outros estabelecimentos, Feira-livre e Supermercado, apresentaram alto grau de contaminação por ftalato e não foram consideradas.

4.3.1.1 Amostra proveniente do Hortifruti

As amostras de rabanete adquiridas no Hortifruti foram adquiridas nos meses de fevereiro e julho.

Os Quadros 29 e 30 (páginas 110 e 111), mostram os resultados da composição e rendimento para a fração volátil das raízes do rabanete com e sem casca, respectivamente, adquirido em fevereiro. Os rendimentos (concentrações) foram calculados em % de área da análise por CG-DIC, cujos cromatogramas encontram-se apresentados nas Figuras 70, 72, 74 e 75 (páginas 163, 165, 167 e 168 em Anexos).

O isotiocianato de 2-feniletila foi detectado em quantidade-traço somente na amostra coletada em fevereiro (Quadro 33, página 114). Hashimoto e Kameoka (1985) e Blazevic e Mastelic (2008) identificaram este metabólito nas folhas e raízes de *R. sativus*, também em

baixas concentrações, ao contrário do que foi observado para o nabo onde está presente em alto percentual. O isotiocianato de 2-feniletila mostrou atividade antioxidante pronunciada, pela inibição da geração de superóxido e óxido nítrico (Ippoushi *et al.*, 2007), efeito antiaterogênico (Suh *et al.*, 2006) e inibição, dependente da dose, da metilação do ADN por N-nitrosobenzilmetilamina (um agente carcinogênico) em culturas de células de esôfago de ratos (Stoewsand, 1995).

O isotiocianato de 4-(metiltio)-3-butenila (Figuras 103 e 104, páginas 184 e 186 em Anexos), foi em média, o derivado-glicosinolato presente em maior concentração nas amostras. Apresentou maior rendimento na amostra de julho sem casca (7,48%) enquanto a amostra correspondente coletada em fevereiro apresentou 1,36%. Pode ser observado que, nas amostras adquiridas durante o mês de fevereiro, houve uma redução de 6,88% para 1,36% com a retirada da casca, enquanto na amostra adquirida em julho observou-se um aumento de 5,70% para 7,48% (Quadro 33, página 114). Esta substância foi previamente identificada como majoritária em sementes e raízes de *R. sativus* L. (Afsharypuor *et al.*, 2005). Produzido por hidrólise do glicosinolato de 4-(metiltio)-3-butenila, ou glicorafasatina, atribuiu-se a este derivado o aroma sulfuroso e pungente característico das raízes do rabanete (Coogan *et al.*, 2001). A propriedade oxi-redutora de seu precursor, a glicorafasatina, foi verificada por Barillari *et al.* (2008), dado à sua capacidade de se oxidar pelo H₂O₂, gerando o glicosinolato de 4-(metilsulfinil)-3-butenila ou glicorafenina. Outras atividades biológicas foram observadas para o isotiocianato de 4-(metiltio)-3-butenila, como a inibição da geração de superóxido e óxido nítrico e, conseqüentemente, da peroxidação lipídica (Ippoushi *et al.*, 2007), inibição da proliferação das células do músculo liso vascular, prevenindo a aterosclerose (Suh *et al.*, 2006), ação antimicrobiana contra *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, *Saccaromyces cerevisiae* e *Aspergillus orizae* e atividade antimutagênica, citadas e demonstradas por Nakamura *et al.* (2001).

O segundo derivado presente em maior concentração em todas as amostras analisadas, foi o isotiocianato de 4-(metiltio)-butila. Foram encontradas, para o rabanete com e sem casca adquirido em fevereiro, concentrações de 2,96% e 1,81%, respectivamente; para o vegetal adquirido em julho, os rendimentos obtidos foram de 4,16% e 8,07%, respectivamente (Quadro 33, página 114). Blazevic e Mastelic (2008) também detectaram este isotiocianato, como o majoritário dentre os derivados identificados, em estudo com folhas e raízes de rabanete do sul da Croácia. Os pesquisadores verificaram que dependendo da polaridade da coluna (HP-20M e HP-101), isotiocianatos, nitrilas e outros derivados do enxofre são detectados de forma quantitativamente diferente. Segundo os autores, a coluna HP-101 foi a que resultou em melhores resultados. Como exemplo, o percentual de detecção dos isotiocianatos de 4-(metiltio)-butila e 4-(metiltio)-3-butenila foram, respectivamente: coluna HP-101 - 21,5% e 0,9%; coluna HP-20M - 0,3% e não detectado. Seria interessante, nos próximos trabalhos, utilizar diferentes colunas para avaliar o perfil qualitativo e quantitativo dos derivados de glicosinolatos em espécies de Brassicaceae cultivadas no Brasil.

De acordo com Schreiner *et al.* (2002), devido à baixa receptividade da incidência de luz pelas raízes do rabanete, o efeito da temperatura pode ser o principal influenciador na biossíntese de glicosinolatos. Logo, segundo o autor, o aumento no conteúdo de glicosinolatos pode estar associado aos períodos mais quentes. Considerando os resultados obtidos no presente trabalho, não há como corroborar com esta observação tendo em vista a variabilidade verificada em relação ao rendimento relativo obtido, das frações analisadas (Quadro 33, página 114).

O ácido hexadecanóico ou ácido palmítico foi o componente majoritário presente em todas as frações analisadas. As porções sem casca apresentaram maior concentração relativa: na fração RSHV, sua concentração chegou a 73% e na fração RSHI o percentual foi de 29,37% (Figuras 70, 71, 72, 73, 74 e 75, páginas 163 a 168 em Anexos). No trabalho

realizado por Blazevic e Mastelic (2008), o ácido palmítico, foi também a substância de maior abundância no rabanete em todas as variedades estudadas (negro, branco e vermelho).

Quadro 29: Composição da fração volátil das raízes de rabanete com casca proveniente do Hortifruti, adquirido em fevereiro (RCHV).

Substância	TR (min.)	IR_{calc}	IR_{lit}	Conc. (%)
3-hexen-1-ol	1,94	855	857	NQ
Nonanol	11,20	1175	1171	5,14
dodecano	12,78	1210	1200	1,59
tetradecano	21,05	1401	1400	6,08
Isotiocianato de 4-(metiltio)-3-butenila	21,68	1417	-	6,88
Isotiocianato de 4-(metiltio)-butila	21,83	1421	-	2,96
pentadecano	25,12	1498	1500	1,02
Isotiocianato de 5-(metiltio)-pentila	26,43	1531	-	NQ
Isotiocianato de 3-fenilpropila	28,82	1589	-	0,95
Não identificado	30,71	1648	-	1,04
Isotiocianato de 6-(metiltio)-hexila	31,09	1649	-	4,24
Ftalato de diisobutila	35,06	1753	-	2,30
Não identificado	38,35	1845	-	9,34
Não identificado	38,58	1852	-	1,47
Nonadecano	40,65	1906	1993	4,70
Éster metílico do ác. hexadecanóico	41,13	1924	1927	1,89
Não identificado	41,44	1933	-	1,41
Ác. hexadecanóico	41,89	1956	-	22,02
Não identificado	45,99	2074	-	1,02
Eneicosano	46,86	2103	2100	1,61
Não identificado	47,16	2113	-	3,25
Não identificado	47,29	2118	-	1,41

Ác. octadecatrienóico (linolênico)	47,94	2140	-	0,80
Ftalato	57,98	2453	-	3,15
Não identificado	69,21	2692	-	1,15

Total quantificado

85,42

TR (min.) – tempo de retenção em minutos.

IR_{calc} – índice de retenção calculado a partir dos tempos de retenção das substâncias eluídas por CG-DIC e de uma série homóloga de hidrocarbonetos alifáticos saturados (C₈ a C₂₈).

IR_{lit} - índice de retenção da literatura (Adams, 1995).

(-) – índice de retenção não descrito na literatura de referência (Adams, 1995).

NQ – não quantificado

Quadro 30: Composição da fração volátil das raízes de rabanete sem casca proveniente do Hortifruti, adquirido em fevereiro (RSHV).

Substância	TR (min.)	IR _{calc}	IR _{lit}	Conc. (%)
3-hexen-1-ol	1,94	855	857	NQ
tetradecano	21,04	1401	1400	3,00
Isotiocianato de 4-(metiltio)-3-butenila	21,68	1417	-	1,36
Isotiocianato de 4-(metiltio)-butila	21,83	1421	-	1,81
Ftalato de isobutila	34,92	1749	-	2,47
Não identificado	38,07	1843	-	2,17
Ftalato de dibutila	38,30	1843	-	2,71
nonadecano	40,38	1902	1900	0,85
Éster metílico do ác. hexadecanóico	40,88	1920	1927	0,94
Ác. hexadecanóico	41,75	1952	-	73,00
eneicosano	46,98	2107	2100	1,97
Não identificado	47,13	2112	-	1,00
Ác. octadecatrienóico	47,78	2135	-	1,37
Ftalato	57,93	2452	-	0,65

Total quantificado

92,08

TR (min.) – tempo de retenção em minutos.

IR_{calc} – índice de retenção calculado a partir dos tempos de retenção das substâncias eluídas por CG-DIC e de uma série homóloga de hidrocarbonetos alifáticos saturados (C₈ a C₂₈).

IR_{lit} - índice de retenção da literatura (Adams, 1995).

(-) – índice de retenção não descrito na literatura de referência (Adams, 1995).

NQ – não quantificado

Quadro 31: Composição da fração volátil das raízes do rabanete com casca proveniente do Hortifruti, adquirido em julho (RCHI).

Substância	TR (min.)	IR_{calc}	IR_{lit}	Conc. (%)
3-hexen-1-ol	1,51	851	857	NQ
Nonanal	11,00	1173	1171	NQ
Dodecano	12,45	1203	1200	6,60
Tetradecano	20,62	1394	1400	11,7
Isotiocianato de 4-(metiltio)-3-butenila	21,24	1415	-	5,70
Isotiocianato de 4-(metiltio)-butila	21,40	1418	-	4,16
Octadecano	36,65	1796	1800	2,70
Não identificado	37,72	1827	-	2,71
Ácido hexadecanóico (palmitico)	41,36	1924	-	20,88
Eneicosano	46,86	2103	2100	1,95
Pentacosano	60,05	2496	2500	1,37
Ftalato	63,32	2560	-	1,78
Não identificado	66,36	2625	-	1,64
Ftalato	68,87	2684	-	1,44
Hexacosano	69,22	2693	-	2,78
Heptacosano	69,90	2707	-	3,26
Não identificado	70,15	2712	-	4,87
Não identificado	70,32	2716	-	1,59
Não identificado	70,57	2721	-	1,95
Não identificado	71,42	2737	-	2,56
Não identificado	71,69	-	-	4,00
Não identificado	72,26	2754	-	6,97
Total quantificado				90,61

TR (min.) – tempo de retenção em minutos.

IR_{calc} – índice de retenção calculado a partir dos tempos de retenção das substâncias eluídas por CG-DIC e de uma série homóloga de hidrocarbonetos alifáticos saturados (C₈ a C₂₈).

IR_{lit} - índice de retenção da literatura (Adams, 1995).

(-) – índice de retenção não descrito na literatura de referência (Adams, 1995).

NQ – não quantificado

Quadro 32: Composição da fração volátil das raízes do rabanete sem casca proveniente do Hortifruti adquirido em julho (RSHI).

Substância	TR (min.)	IR _{calc}	IR _{lit}	Conc. (%)
3-hexen-1-ol	1,53	855	857	NQ
Dodecano	12,79	1202	1200	1,87
Tetradecano	20,96	1399	1400	19,64
Isotiocianato de 4-(metiltio)-3-butenila	21,58	1415	-	7,48
Isotiocianato de 4-(metiltio)-butila	21,73	1419	-	8,07
Não identificado	37,80	1829	-	2,92
Ácido hexadecanóico (palmítico)	41,41	1924	-	29,37
Eneicosano	46,88	2104	2100	1,97
Pentacosano	60,05	2496	2500	NQ
Ftalato	63,30	2560	-	1,55
Heptacosano	66,35	2623	-	1,68
Não identificado	69,89	2707	-	1,79
Não identificado	70,14	2712	-	3,57
Não identificado	71,41	2737	-	2,33
Não identificado	72,25	2754	-	5,61
Não identificado	72,53	2754	-	3,43
Total quantificado				91,28

TR (min.) – tempo de retenção em minutos.

IR_{calc} – índice de retenção calculado a partir dos tempo de retenção das substâncias eluídas por CG-DIC e de uma série homóloga de hidrocarbonetos alifáticos saturados (C₈ a C₂₈).

IR_{lit} - índice de retenção da literatura (Adams, 1995).

Conc. (%) – concentrações calculadas em % de área da análise por CG-DIC

(-) – índice de retenção não descrito na literatura de referência (Adams, 1995).

NQ – não quantificado

Quadro 33: Derivados de glicosinolatos detectados na fração volátil das raízes do rabanete adquirido no Hortifruti em fevereiro e em julho.

Substância	FEVEREIRO (%)		JULHO (%)	
	Com casca	Sem casca	Com casca	Sem casca
Isotiocianato de 4-(metiltio)-3-butenila	6,88	1,36	5,70	7,48
Isotiocianato de 4-(metiltio)-butila	2,96	1,81	4,16	8,07
Isotiocianato de 2-feniletila	traços	traços	ND	ND
Isotiocianato de 5-(metiltio)-pentila	NQ	ND	ND	ND
Isotiocianato de 3-fenilpropila	0,95	ND	ND	ND
Isotiocianato de 6-(metiltio)-hexila	4,24	ND	ND	ND

(%) – concentrações calculadas em % de área de análise por CG-DIC.

ND – não detectado

NQ – não quantificado

Song e Thornalley (2007) verificaram, em diversas espécies de *Brassica* que após uma hora de corte, o conteúdo de glicosinolatos nos vegetais declina significativamente, numa taxa de aproximadamente 30 a 50%, para a formação de isotiocianatos.

Confrontando com as observações feitas por Schreiner *et al.* (2002), anteriormente mencionadas na página 109, Coogan *et al.* (2001) verificaram que temperaturas mais amenas (entre 13°C e 20°C) são mais favoráveis para a síntese de glicosinolatos no vegetal e, conseqüentemente, para a produção de seus derivados hidrolíticos. Estes dados têm relação com as informações obtidas pelos comerciantes, aos quais perguntou-se sobre a época do cultivo do rabanete e das demais espécies em estudo. Foi respondido que o cultivo do rabanete no verão é muito difícil, sendo a sua produção mais favorável no período de abril a outubro, ou seja, entre o outono e a primavera, justificando a concentração dos derivados de glicosinolatos ser maior na amostra coletada em julho do que naquela de fevereiro, conforme ilustram os resultados.

4.3.2 Atividade antioxidante

Conforme pode ser observado nos gráficos das Figuras 37 e 38, página 116, a atividade antioxidante mostrou-se mais potente na amostra coletada em julho, com valores de CE_{25} menores, sendo $59,000 \pm 0,003 \mu\text{g/ml}$ para o rabanete com casca e $107,000 \pm 0,003 \mu\text{g/ml}$ para o rabanete sem casca. Na amostra coletada em fevereiro, as concentrações para exercerem efeito antioxidante de 25% foram de $CE_{25} = 66,000 \pm 0,004 \mu\text{g/ml}$ para o rabanete com casca e $CE_{25} = 277,000 \pm 0,0009 \mu\text{g/ml}$ para o rabanete sem casca. As análises estatísticas dos gráficos das amostras adquiridas nos dois períodos (Figuras 37 e 38) mostram valores de $p < 0,05$, indicando uma diferença estatisticamente significativa entre os potenciais antioxidantes das porções com e sem casca, onde $p = 0,04$ para a amostra coletada em julho e $p = 0,02$ para a amostra coletada em fevereiro.

Os valores de CE_{25} encontrados nas amostras dos dois períodos são compatíveis com os respectivos teores de fenóis totais (Quadro 34, página 117). Para o rabanete adquirido em julho, foram encontrados os valores de $4,700 \pm 0,120 \text{ mg de ácido gálico/g}$ para a porção com casca e $3,600 \pm 0,084 \text{ mg de ácido gálico/g}$ para a porção sem casca. A diferença entre as porções foi estatisticamente significativa com $p = 0,037$. As determinações para as respectivas porções da amostra coletada em fevereiro foram: $4,450 \pm 0,120 \text{ mg de ácido gálico/g}$ para o rabanete com casca e $3,60 \pm 0,078 \text{ mg de ácido gálico/g}$ para o rabanete sem casca, também com diferença estatisticamente significativa, com $p = 0,041$.

Os gráficos das atividades antioxidantes apresentaram valores de coeficientes de correlação considerados bons: para a amostra coletada no inverno, $R^2 = 0,9666$ para a porção com casca e $R^2 = 0,9540$ para a porção sem casca; para a amostra coletada no verão, $R^2 = 0,9377$ para a porção com casca, e, $R^2 = 0,8686$ para a porção sem casca. Assim como nas demais espécies em estudo, estes coeficientes de correlação, maiores que 0,8, denotam uma

proporcionalidade direta entre a atividade antioxidante e a concentração de extrato vegetal (Mensor *et al.*, 2001; Borguini, 2006).

O Quadro 34 mostra um resumo dos resultados obtidos para a atividade antioxidante e teor de fenóis totais para o rabanete proveniente do Hortifruti dos meses de fevereiro e julho.

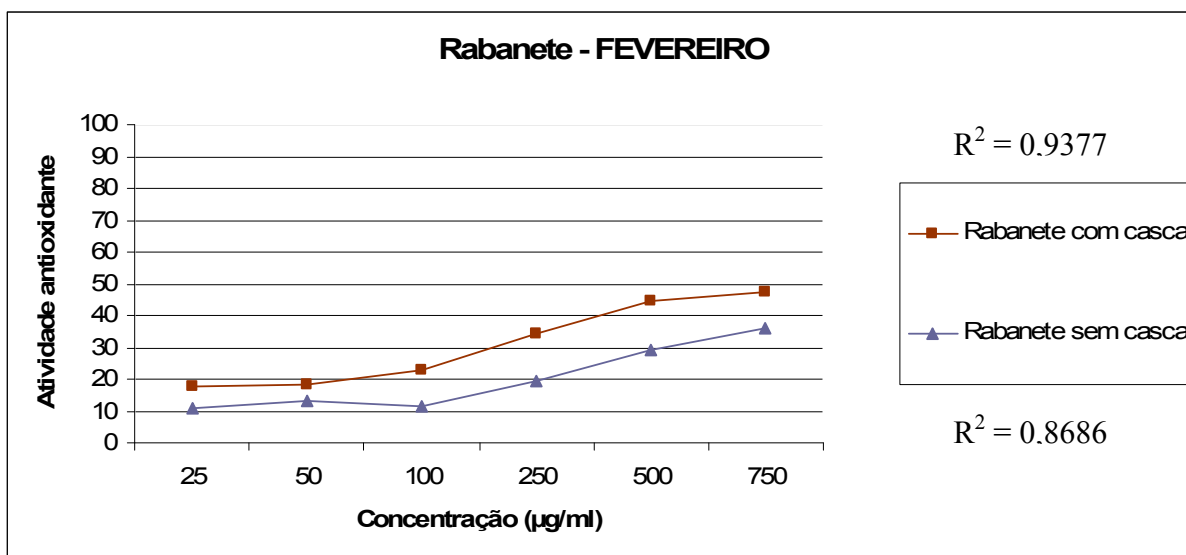


Figura 37: Gráfico da atividade antioxidante (%) versus concentração (µg/ml) de extrato aquoso de *Raphanus sativus* L. (rabanete) obtido no Hortifruti no mês de fevereiro

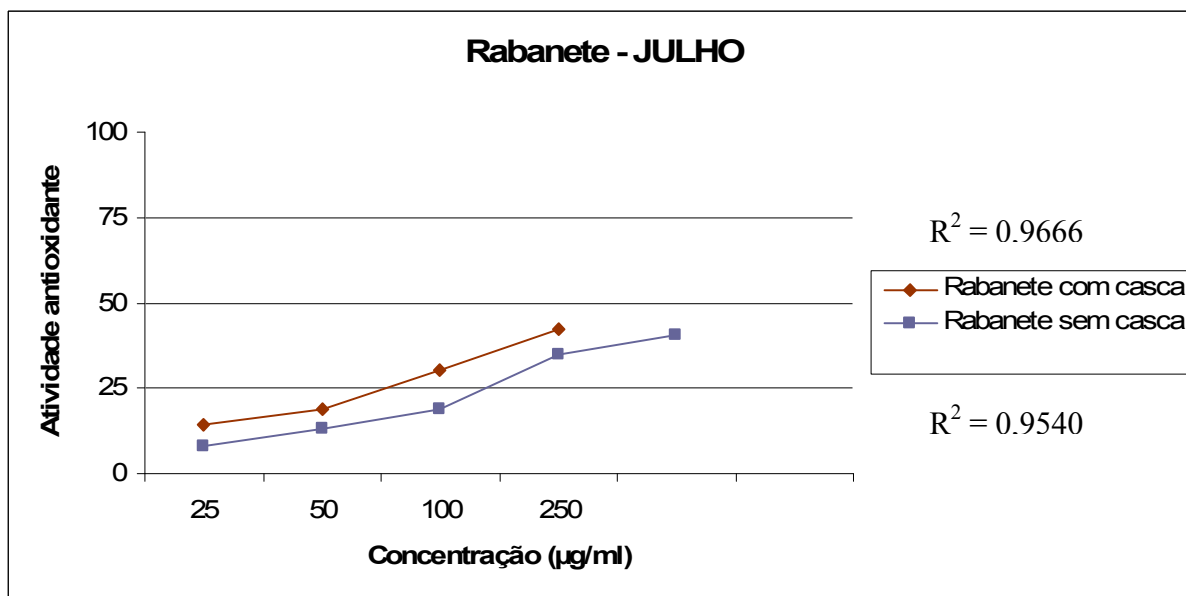


Figura 38: Gráfico da atividade antioxidante (%) versus concentração (µg/ml) de extrato aquoso de *Raphanus sativus* L. (rabanete) obtido no Hortifruti no mês de julho.

Quadro 34: Atividade antioxidante, expressa em CE₂₅ ± desvio-padrão (D.P.) e teor de fenóis totais, expresso em miligramas de equivalente de ácido gálico por grama de amostra (mg/g), do rabanete proveniente do Hortifruti durante os meses de fevereiro e julho.

Amostra	FEVEREIRO		JULHO	
	Atividade antioxidante (CE ₂₅ ± D. P.)	Teor de fenóis totais (mg de ácido gálico/g de amostra)	Atividade antioxidante (CE ₂₅ ± D. P.)	Teor de fenóis totais (mg de ácido gálico/g de amostra)
Rabanete com casca	66,000 ± 0,004	4,450 ± 0,120 ^b	59,000 ± 0,003	4,700 ± 0,120 ^b
Rabanete sem casca	277,000 ± 0,001	3,600 ± 0,078 ^b	107,000 ± 0,003	3,600 ± 0,084 ^b

*Os valores representam médias ± desvio-padrão (D. P.) obtidos por meio de três determinações de atividade antioxidante e fenóis totais.

**CE₂₅: concentração (µg/ml) de extrato necessária para exercer 25% de um efeito máximo estimado em 100%.

^bOcorreram diferenças estatisticamente significativas ao nível de 5% (p < 0,05) entre as porções com e sem casca.

Em seu estudo sobre processamento em rabanete, del Aguila *et al.* (2006) verificaram que o corte do vegetal propiciou o decréscimo do teor de ácido ascórbico, um agente antioxidante muito importante presente nas plantas. Levine *et al.* (2008) atribuíram a atividade antioxidante do rabanete, em parte, à presença do ácido ascórbico e folatos, presentes em grande quantidade nesta espécie, e às antocianinas, presentes na casca (Otsuki *et al.*, 2002; Tatsuzawa *et al.*, 2008). Sabe-se que a ruptura do tecido vegetal causa alterações metabólicas, assim a retirada da casca pode propiciar a hidrólise de glicosinolatos em produtos voláteis com atividade antioxidante, perda de antocianinas e ácido ascórbico, promovendo uma diminuição na atividade antioxidante.

De acordo com as diferenças de perfis de atividade antioxidante observadas nesta amostra, em função da estação do ano, pode-se dizer que os resultados obtidos concordam com os dados de Coogan *et al.* (2001), que mostraram que à temperaturas mais baixas, ocorre

maior preservação de material vegetal para a síntese de metabólitos especiais, dentre os quais, substâncias com atividade biológica, algumas delas, dotadas de propriedades antioxidantes.

5 CONCLUSÕES

- Os constituintes voláteis presentes no nabo em maior concentração são o isotiocianato de 2-feniletila, benzopropanonitrila, 2-metil-5-hexenonitrila e isotiocianato de *sec*-butila. Esta foi a espécie que apresentou a maior variedade em derivados de glicosinolatos.
- Na rúcula foi verificada a prevalência do isotiocianato de 4-(metiltio)-butila, responsável pela atividade antioxidante direta, ou seja, capacidade em sequestrar radicais livres.
- No rabanete, o isotiocianato de 4-(metiltio)-3-butenila foi detectado em concentrações maiores que a dos demais componentes. A erucina também foi detectada em concentrações apreciáveis nesta espécie.
- A variação de concentração da maioria dos derivados de glicosinolatos após a operação de corte com a retirada da casca das raízes de nabo e rabanete ou pela refrigeração das folhas de rúcula, foi confirmada pelos resultados obtidos.
- Verificou-se que o período do verão foi mais favorável para a síntese de substâncias no nabo, com perdas mais acentuadas com a retirada das cascas para os isotiocianatos de ciclopentila e *sec*-butila. Para a rúcula e o rabanete, o período do inverno foi o mais favorável para a produção de maior número e concentração de derivados de glicosinolatos.

- A espécie que apresentou a atividade antioxidante mais potente foi o rabanete, apresentando os menores valores para CE_{25} nas amostras adquiridas nas duas estações. Este poder antioxidante mais pronunciado pode estar relacionado à concentração de isotiocianato de 4-(metiltio)-butila, detectado em maior quantidade na amostra do inverno.
- A atividade antioxidante da rúcula também mostrou-se apreciável, graças a concentrações notáveis de isotiocianato de 4-(metiltio)-butila (erucina).
- O nabo foi a espécie que apresentou a atividade antioxidante mais baixa, possivelmente por ter, em maior concentração, o isotiocianato de 2-feniletila, que possui ação antioxidante indireta por indução de enzimas de fase II de destoxificação de xenobióticos. Seus valores de CE_{25} para as porções com e sem casca foram os maiores em relação aos das demais espécies estudadas.
- Verificou-se que as operações de corte e refrigeração causam modificações nos comportamentos fisiológico e metabólico do vegetal, redundando em alterações de ordens química e biológica que podem afetar a qualidade de produtos hortícolas para a alimentação humana. Assim sendo, a fim de se preservar ao máximo as propriedades funcionais dos alimentos, seu consumo sob as formas mais íntegra e fresca possível é recomendável, uma vez que desconhece-se o grau de variação dos metabólitos presentes nos vegetais provocada por tais operações.

6 REFERÊNCIAS

ADAMS, R. P. Identification of Essential Oil Components by Gas Chromatography/Mass Spectrometry, **Allured Publishing Corporation**, Carol Stream, Il., 1995.

AFSHARYPUOR, S., BALAM, M. H., Volatile constituents of *Raphanus sativus* var. *Niger* seeds, **Journal of Essencial Oil Research**, v. 17, p. 440-441, July/August, 2005.

ANDRADE, C. A., COSTA, C. K., BORA, K., MIGUEL, M. D., MIGUEL, O. G., KERBER, V. A. Determinação do conteúdo fenólico e avaliação da atividade antioxidante de *Acácia podalyriifolia* A. Cunn. ex G. Don., Leguminosae-mimosoideae. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v. 17, n. 2, p. 231-235, 2007.

ANJO, D. F. C., Alimentos funcionais em angiologia e cirurgia vascular, **Jornal Vascular Brasileiro**, v. 3, n. 2, p. 145-54, 2004.

ASHOK, B. T., ALI, R., The aging paradox: free radical theory of aging, **Experimental Gerontology**, v. 34, p. 293-303, 1999.

BADEE, A. Z. M., HALLABO, S. A., AAL, M. A. A. Antioxidant and antimicrobial activities of Egyptian *Eruca sativa* seed volatile oil, **Egyptian Journal of Food Science**, v. 31, n. 1-2, p. 79-88, 2003.

BARBIERI, G., PERNICE, R., MAGGIO, A., DE PASCALE, S., FOGLIANO, V., Glucosinolates profile of *Brassica rapa* L. subsp. *Sylvestris* L. Janch. var. *esculenta* Hort, **Food Chemistry**, v. 107, p. 1687-1691, 2008.

BARILLARI, J., CANISTRO, D., PAOLINI, M., FERRONI, F., PEDULLI, G. F., IORI, R., VALGIMIGLI, L., Direct antioxidant activity of purified glucoerucin, the dietary secondary metabolite contained in rocket (*Eruca sativa* Mill.) seeds and sprouts, **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 53, p. 2475-2482, 2005.

BARILLARI, J., CERVELLATI, R., PAOLINI, M., TATIBOUET, A., ROLLIN, P., IORI, R. Isolation of 4-methylthio-3-butenyl glucosinolate from *Raphanus sativus* sprouts (kaiware daikon) and its redox properties, **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 53, p. 9890-9896, 2005.

BENNETT, R. N., CARVALHO, R., MELLON, F. A., BOTTING, N. P., EAGLES, J., ROSA, E. A. S., WILLIAMSON, G., Identification of the major glucosinolate (4-

mercaptobutyl glucosinolate) in leaves of *Eruca sativa* Mill. (salad rocket), **Phytochemistry**, v. 61, p. 25-30, 2002.

BENNETT, R. N., CARVALHO, R., MELLON, F. A., EAGLES, J., ROSA, E. A. S., Identification and quantification of glucosinolates in sprouts derived from seeds of wild of *Eruca sativa* Mill. (salad rocket) and *Diplotaxis tenuifolia* (wild rocket) from diverse geographical locations, **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 55, p. 67-74, 2007.

BLAZEVIC, I., MASTELIC, J. Glucosinolate degradation products and other bound and free volatiles in the leaves and roots of radish (*Raphanus sativus* L.), **Food Chemistry**, v. 113, n. 1, p. 96-102, 2009.

BONES, A. M., ROSSITER, J. T., The enzymic and chemically induced decomposition of glucosinolates, **Phytochemistry**, v. 67, p. 1053-1067, 2006.

BORGUINI, R. G., **Avaliação do potencial antioxidante e de algumas características físico-químicas do tomate (*Lycopersicon esculentum*) orgânico em comparação ao convencional**, São Paulo, 2006. Tese (Doutorado em Saúde Pública)-Curso de Saúde Pública, Universidade de São Paulo, 2006.

BRAND-WILLIAMS, W., CUVELIER, M. E., BRESSET, C. Use of a free radical method to evaluate antioxidant activity, **Lebensmittel-Wissenschaft und Technologie**, v. 28, p. 25-30, 1995.

BRASIL, Agência Nacional de Vigilância Sanitária, Portaria n° 398, de 30 de abril de 1999.

CARVALHO, P. G. B., MACHADO, C. M. M., MORETTI, C. L., FONSECA, M. E. N., Hortaliças como Alimentos Funcionais. **Horticultura Brasileira**, v. 24, p.397-404, 2006.
CHONG, C., JU, H. Y., BIBLE, B. B. Glucosinolate composition of turnip and rutabaga cultivars, **Canadian Journal of Plant Science**, v. 62, n. 2, p. 533-536, 1982.

COOGAN, R. C., WILLS, R. B. H., NGUYEN, V. Q., Pungency levels of white radish (*Raphanus sativus* L.) grown in different seasons in Australia, **Food Chemistry**, v. 72, p. 1-3, 2001.

CORRÊA, M. P., **Dicionário das plantas úteis do Brasil, volume V**, Rio de Janeiro (GB), Ministério da Agricultura, Instituto Brasileiro de Desenvolvimento Florestal, 1978.

COSTA, N. M. B., ROSA, C. O. B., Alimentos Funcionais, **Editora Folha de Viçosa Ltda.**, 2006, Viçosa, MG; p 138-146.

CRAVEIRO, A. C., CRAVEIRO, A. A., **Alimentos funcionais - A nova revolução**, PADETEC, 2003, Fortaleza, p. 122-126.

DEL AGUILA, J. S., SASAKI, F. F., HEIFFIG, L. S., ORTEGA, E. M. M., JACOMINO, A. P., KLUGE, R. A. Fresh-cut radish using different cut types and storage temperatures, **Postharvest Biology and Technology**, v. 40, p. 149-154, 2006.

DE PASCALE, S., MAGGIO, A., PERNICE, R., FOGLIANO, V., BARBIERI, G. Sulphur fertilization may improve the nutritional value of *Brassica rapa* L. subsp. *sylvestris*, **European Journal of Agronomy**, v. 26, p. 418-424, 2007.

DE WEVER, H., VERACHTERT, H. Biodegradation and toxicity of benzothiazoles, **Water Research**, v. 31, n. 11, p. 2673-2684, 1997.

DOUGHTY, K. J., MARGARETH, M. B., CLIVE H. B., FIELDSEND, J. K., PICKETT, J. A., Release of alkenil isothiocyanates and other volatiles from *Brassica rapa* seedlings during infection by *Alternaria brassicae*, **Phytochemistry**, v. 43, n° 2, p. 371-372, 1996.

EL-SAYED, A. M., EL-SAKHAWY, F. S. Identification of principal volatile sabor e aroma os *Brassica rapa* seeds, **Bulletin of the Faculty of Pharmacy (Cairo University)**, v. 33, n. 1, p. 91-94, 1995.

EL TANTAWY, M. E. Phytochemical and biological studies on *Eruca sativa* Mill. Leaves growing in Egypt, **Bulletin of the Faculty of Pharmacy (Cairo University)**, v. 38, n. 2, p. 171-182, 2000.

FAHEY, J. W., ZALCMANN, A. T, TALALAY, P. The chemical diversity and distribution of glucosinolates and isothiocyanates among plants, **Phytochemistry**, v. 56, p. 5-51, 2001.

FALK, K. L., VOGEL, C., TEXTOR, S., BARTRAM, S., HICK, A., PICKETT, J. A., GERSHENZON, J., Glucosinolate biosynthesis: demonstration and characterization of the condensing enzyme of the chain elongation cycle in *Eruca sativa*, **Phytochemistry**, v. 65, p. 1073-1084, 2004.

FERNANDES, F., VALENTÃO, P., SOUSA, C., PEREIRA, J. A., SEABRA, R. M., ANDRADE, P. B., Chemical and antioxidative assessment of dietary turnip (*Brassica rapa* L.), **Food Chemistry**, v. 105, p. 1003-1010, 2007.

FIDALGO, O., BONONI, V. L. R. Técnicas de coleta, preservação e herborização de material botânico. Série Documentos. **Instituto de botânica**, São Paulo. p. 1-62, 1989 .

FIMOGNARI, C.; NUSSE, M.; IORI, R.; CANTELLI-FORTI, G.; HRELIA, P. The new isothiocyanate 4-(methylthio) butyl isothiocyanate selectively affects cell-cycle progression and apoptosis induction of human leukemia cells. **InVest. New Drugs**, v. 22, p. 119-129, 2004.

GILANI, A. H., GHAYUR, M. N. Pharmacological basis for the gut stimulatory activity of *Raphanus sativus* leaves, **Journal of Ethnopharmacology**, v. 95, p. 169-172, 2004.

GREVE, K., NIELSEN, E., LADEFOGED, O. Toxic effects of siloxanes: group evaluation of D3, D4, D5, D6 and HDMS in order to set a health based quality criterion in ambient air, **Toxicology Letters**, v. 180S, p. S32-S246, 2008.

HASEGAWA, T., YAMADA, K., KOSEMURA, S., YAMAMURA, S., HASEGAWA, K. Phototropic stimulation induces the conversion of glucosinolate to phototropism-regulating substances of radish hypocotyls, **Phytochemistry**, v. 54, p. 275-279, 2000.

HASHEM, F. A., SALEH, M. M. Antimicrobial components of some cruciferae plants (*Diplotaxis harra* Forsk. and *Erucaria microcarpa* Boiss.), **Phytotherapy Research**, v. 13, n. 4, p. 329-332, 1999.

HASHIMOTO, S., KAMEOKA, H. Sulfur- and Nitrogen- containing neutral volatile components of Cruciferae, **Journal of Food Science**, v. 50, p. 847-848, 1985.

HASHIMOTO, S., MIYAZAWA, M., KAMEOKA, H. Volatile flavor and nitrogen constituents of *Brassica rapa* L., **Journal of Food Science**, v. 47, p. 2084-2085, 1982.

HASLER, C. M. A new look at an ancient concept, **Chemical Industry**, Feb. 2, p. 84-89, 1998.

HEIMLER, D., VIGNOLINI, P., DINI, M. G., VINCIERI, F. F., ROMANI, A. Antiradical activity and polyphenol composition of local Brassicaceae edible varieties, **Food Chemistry**, v. 99, p. 464-469, 2006.

HOLST, B., WILLIAMSON, G. A critical review of the bioavailability of glucosinolates and related compounds, **Natural Product Reports**, v. 21, p. 425-447, 2004.

IPPOUSHI, K., TAKEUCHI, A., ITO, H., HORIE, H., AZUMA, K., Antioxidative effects of daikon sprout (*Raphanus sativus* L.) and ginger (*Zingiber officinale* Roscoe) in rats, **Food Chemistry**, v. 102, p. 237-242, 2007.

ISHII, G. Glucosinolate in Japanese radish, *Raphanus sativus* L., **Japan Agricultural Research Quarterly**, v. 24, p. 273-279, 1991.

JEFFERY, E. H., BROWN, A. F., KURILICH, A. C., KECK, A. S., MATUSHESKI, N., KLEIN, B. P., JUVIK, J. A. Variation in content of bioactive components in broccoli, **Journal of Food Composition and Analysis**, v. 16, p. 323-330, 2003.

JENSEN, K. A., CONTI, J., KJAER, A. Isothiocyanates II. Volatile isothiocyanates in seeds and roots of various Brassicaceae, **Acta Chemica Scandinavica**, v. 7, p. 1267-1270, 1953.

JIROVETZ, L., SMITH, D., BUCHBAUER, G. Aroma compound analysis of *Eruca sativa* (Brassicaceae) SPME headspace leaf samples using GC, GC-MS and olfactometry, **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 50, p. 4643-4646, 2002.

JU, H. Y., CHONG, C., MULLIN, W. J., BIBLE, B. B., Volatile isothiocyanates and nitriles from glucosinolates in rutabaga and turnip, **Journal of the American Society for Horticultural Science**, v. 107, n. 6, p. 1050-1054, 1982.

KAMEOKA, H., HASHIMOTO, S. Studies on constituents of the genus *Brassica*. Part III. The constituents of steam volatile oil from *Brassica rapa* L. var. *laciniitolia* Kitamura, **Nippon Nogei Kagaku Kaishi**, v. 54, n. 10, p. 865-869, 1980.

KAMEOKA, H., HASHIMOTO, S., Sulfur- and nitrogen- containing neutral volatile components of Cruciferae, **Journal of Food Science**, v. 50, p. 847-848, 1985.

KJAER, A., MADSEN, J. O., MAEDA, Y., OZAWA, Y., UDA, Y. Volatiles in distillates of processed radish of Japanese origin, **Agricultural and Biological Chemistry**, v. 42, n. 11, p. 1989-1996, 1978.

KJAER, A., SCHUSTER, A. ω -methylthioalkylglucosinolates and some oxidized congeners in seeds of *Erysimum rhaeticum*, **Phytochemistry**, v. 12, p. 929-933, 1973.

KOUKONARAS, A., SIOMOS, A. S., SFAKIOTAKIS, E. Postharvest CO₂ and ethylene production and quality of rocket (*Eruca sativa* Mill.) leaves as affected by leaf age and storage temperature, **Postharvest Biology and Technology**, v. 46, p. 167-173, 2007.

LAMY, E., OEY, D., EIßMANN, F., SUNDERMANN, V. Benzyl isothiocyanate (BITC) and 4-methylthiobutyl isothiocyanate (MTBITC) induce apoptosis in ascites-derived, human ovarian carcinoma cells, **Toxicology Letters**, v. 180, Sup. 1, p. S37, 2008.

LAMY, E., SCHRÖDER, J., PAULUS, S., BRENK, P., STAHL, T., MERSH-SUNDERMANN, V. Antigenotoxic properties of *Eruca sativa* (rocket plant), erucin and erysolin in human hepatoma(HepG2) cells towards benzo(α)pireno and their mode of action, **Food and Chemical Toxicology**, v. 46, n. 7, p. 2415-2421, 2008.

LAZZERI, L., ERRANI, M., LEONI, O., VENTURI, G. *Eruca sativa* spp. *oleifera*: a new non-food crop, **Industrial Crops and Products**, v. 20, p. 67-73, 2004.

LEVINE, L. H., BISBEE, P. A., RICHARDS, J. T., BIRMELE, M. N., PRIOR, R. L., PERCHONOK, M., DIXON, M., YORIO, N. C., STUTTE, G. W., WHEELER, R. M. Quality characteristics of the radish grown under reduced atmospheric pressure, **Advances in Space Research**, v. 41, p. 754-762, 2008.

LIANG, Y. -S., KIM, H. K., LEFEBER, A., W. M., EKELENS, C., CHOI, Y. H., VERPOORTE, R. Identification of phenylpropanoids in methyl jasmonate treated *Brassica rapa* leaves using two-dimensional nuclear magnetic resonance spectroscopy, **Journal of Chromatography A**, v. 1112, p. 148-155, 2006.

LIAO, C. S., YEN, J. H., WANG, Y. S. Growth inhibition in Chinese cabbage (*Brassica rapa* var. *chinensis*) growth exposed to di-*n*-butyl phthalate, **Journal of Hazardous Materials**. (2008), doi: 10.1016/j.jhazmat.2008.07.025.

LIMA, V., MÉLO, E. A., MACIEL, M. I. S., PRAZERES, F. G., MUSSER, R. S., LIMA D. E. S. Total phenolic and carotenoid contents in acerola genotypes harvested at three ripening stages, **Food Chemistry**, v. 90, n. 4, p. 565-568, 2005.

LOO, G. Redox-sensitive mechanisms of phytochemical-mediated inhibition of cancer cell proliferation (Review), **Journal of Nutritional Biochemistry**, n. 14, p. 64-73, 2003.

LOTITO, S. B., FREI, B., Relevance of apple polyphenols as antioxidant in human plasma: contrasting *in vitro* and *in vivo* effects, **Free Radicals in Biology and Medicine**, v. 36, p. 201-211, 2004.

MAHRAN, G. H., KADRY, H. A., THABET, C. K., EL-OLEMY, M. M., AL-AZIZI, M. M., SCHIFF JR., P. L., WONG, L. K. GC/MS Analysis of volatile oil from *Eruca sativa* seeds, **International Journal of Pharmacognosy**, v. 30, n. 2, p. 135-137, 1992.

MASTELIC, J., JERKOVIC, I., BLAZEVIC, I., RADONIC, A., KRSTULOVIC, I. Hidrodistillation-adsorption method for the isolation of water soluble, non-soluble and high volatile compounds from plant materials, **Talanta**, v. 76, p. 885-891, 2008.

MATSUOKA, H., TODA, Y., YONEYAMA, K., UDA, Y. Formation of raphanusanins depends on extraction procedure and solvent, **Phytochemistry**, v. 47, n. 6, p. 975-977, 1998.

McCORD, J.M., The evolution of free radicals and oxidative stress, **American Journal of Medicine**, v. 108, p. 652-659, 2000.

MENSOR, L. L. **Avaliação da atividade antioxidante em plantas brasileiras**, Rio de Janeiro, 1999. Dissertação (Mestrado em Ciências Farmacêuticas) – Faculdade de Farmácia, Universidade Federal do Rio de Janeiro, 1999.

MENSOR, L. L., MENEZES, F. S., LEITÃO, G. G., REIS, A. S., SANTOS, T. C., COUBE, C. S., LEITÃO, S. G., Screening of Brazilian plant extracts for, antioxidant activity by the use of DPPH free radical method, **Phytotherapy Research**, v. 15, p. 127-130, 2001.

MITHEN, R. Glucosinolates-biochemistry, genetics and biological activity, **Plant Growth Regulation**, v. 34, p. 91-103, 2001.

MIYAZAWA, M., MAEHARA, T., KUROSE, K. Composition of the essential oil from the leaves of *Eruca sativa*, **Flavour and Fragrance Journal**, v. 17, n. 3, p. 187-190, 2002.

MORENO, D. A., CARVAJAL, C., LÓPEZ-BERENGUER, GARCÍA-VIGUERA, C. Chemical and biological characterization of nutraceutical compounds of broccoli, **Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis**, v. 41, p. 1508-1522, 2006.

NAFISI, M., SONDERBY, I. E., HANSEN, B. G., FLORES, F. G., NOUR-ELDIN, H. H., NORHOLM, M. H. H., JENSEN, N. B., LI, J., HALKIER, B. A. Cytochromes P450 in the biosynthesis of glucosinolates and indole alkaloids, **Phytochemistry Reviews**, v. 5, p. 331-346, 2006.

NAKAMURA, Y., IWAHASHI, T., TANAKA, A., KOUTANI, J., MATSUO, T., OKAMOTO, S., SATO, K., OHTSUKI, K. 4-(methylthio)-3-butenyl isothiocyanate, a principal

antimutagen in daikon (*Raphanus sativus*; Japanese radish), **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 49, p. 5755-5760, 2001.

NHO, C. W., JEFFERY, E. Crambene, a bioactive nitrile derived from glucosinolate hydrolysis, acts via the antioxidant response element to upregulate quinone reductase alone or synergistically with indole-3-carbinol, **Toxicology and Applied Pharmacology**, v. 198, p. 40-48, 2004.

OTSUKI, T., MATSUFUJI, H., TAKEDA, M., TOYODA, M., GODA, Y. Acylated anthocyanins from red radish (*Raphanus sativus* L.), **Phytochemistry**, v. 60, p. 79-87, 2002.

PADILLA, G., CARTES, M. E., VELASCO, P., HARO, A., ORDÁS, A., Variation of glucosinolates in vegetable crops of *Brassica rapa*, **Phytochemistry**, v. 68, p. 536-545, 2007.

PERRY, G., PERRY, A. K., RAINA, A., NUNOMURA, T., WATAYA, L. M., SAYRE, M. A., How important is oxidative damage? Lessons from Alzheimer's disease, **Free Radical Biology and Medicine**, v. 28, p. 831-834, 2000.

PODSEDEK, A. Natural antioxidants and antioxidant capacity of Brassica vegetables: a review, **Food Science and Technology**, v. 40, p. 1-11, 2007.

QUEIROZ, E. K. R., WAISSMANN, W. Exposição ocupacional e efeitos sobre o sistema reprodutor masculino, **Cadernos de Saúde Pública**, v. 22, n. 3, Rio de Janeiro, mar. 2006.

ROHLOFF, J., BONES, A. M. Volatile profiling of *Arabidopsis thaliana* – putative olfactory compounds in plant communication, **Phytochemistry**, v. 66, p. 1941-1955, 2005.

SARWAR ALAM, M., KAUR, G., JABBAR, Z., JAVED, K., ATHAR, M., *Eruca sativa* seeds possess antioxidant activity and exert a protective effect on mercuric chloride induced renal toxicity, **Food and Chemical Toxicology**, v. 45, p. 910-920, 2007.

SCHREINER, M., HUYSKENS-KEIL, S., PETERS, P., SCHONHOF, I., KRUMBEIN, A. Seasonal climate effects on root colour and compound of red radish, **Journal of the Science of Food and Agriculture**, v. 82, p. 1325-1333, 2002.

SIVAKUMAR, G., ALIBONI, A., BACCHETTA, L. HPLC screening of anti-cancer sulforaphane from important European *Brassica* species, **Food Chemistry**, v. 104, p. 1761-1764, 2007.

SIVANESAN, A., KANNAN, P., ABRAHAM, S. Electrocatalytic oxidation of ascorbic acid using a single layer of gold nanoparticles immobilized on 1,6-hexanedithiol modified gold electrode, **Eletrochimica Acta**, v. 52, n. 28, p. 8118-8124, 2007.

SONG, L., THORNALLEY, P. J. Effect of storage, processing and cooking on glucosinolate content of *Brassica* vegetables, **Food and Chemical Toxicology**, v. 45, p. 216-224, 2007.

SOUSA, C., M. M., SILVA, H. R., VIEIRA-JR, G. M., 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, n. 2, p. 351-355, 2007.

SOUSA, C., TAVEIRA, M., VALENTÃO, P., FERNANDES, F., PEREIRA, J. A., ESTEVINHO, L., BENTO, A., FERRERES, F., SEABRA, R. M., ANDRADE, P. B. Inflorescences of Brassicaceae species as source of bioactive compounds: a comparative study, **Food Chemistry**, v. 110, p. 953-961, 2008.

SOUZA, V. C.; LORENZI, H., Botânica Sistemática-Guia ilustrado para identificação das famílias de Angiospermas da flora brasileira, baseado em APG II, **Instituto Plantarum de Estudos da Flora Ltda.**, Nova Odessa, SP, p. 403-404, 2005.

STOEWSAND, G. S. Bioactive organosulfur phytochemicals in *Brassica oleracea* vegetables – a review, **Food and Chemical Toxicology**, v. 33, n. 6, p. 537-543, 1995.

STONER, G., WANG, L. S., CHEN, T. Chemoprevention of esophageal squamous cells carcinoma, **Toxicology and Applied Pharmacology**, v. 224, p. 337-349, 2007.

SUH, S., MOON, S., KIM, C. *Raphanus sativus* and its isothiocyanates inhibit vascular smooth muscle cells proliferation and induce G1 cell cycle arrest, **International Immunopharmacology**, v. 6, p. 854-861, 2006.

TALALAY, P., FAHEY, J. W., HOLTZCLAW, W. D., PRESTERA, T., ZHANG, Y., Chemoprotection against cancer by, Phase 2 enzyme induction, **Toxicology Letters**, v. 82/83, p. 173-179, 1995.

TANG, L., ZIRPOLI, G. R., GURU, K., MOYSICH, K. B., ZANG, Y., AMBROSONE, C. B., MCCANN, S. E. Consumption of raw cruciferous vegetables is inversely associated with bladder cancer risk, **Cancer Epidemiology Biomarkers e Prevention**, v. 17, p. 938-944, 2008.

TATSUZAWA, F., TOKI, K., SAITO, N., SHINODA, K., SHIGIARA, A., HONDA, T. Anthocyanin occurrence in the root peels, petioles and flowers of red radish (*Raphanus sativus* L.), **Dyes and Pigments**, v. 79, p. 83-88, 2008.

UDA, Y., KUBOTA, S., MAEDA, Y. Effects of storage temperature on retention of volatile isothiocyanates in salted cruciferous vegetables, **Nippon Shokuhin Kogyo Gakkaishi**, v. 35, n. 7, p. 513-517, 1988.

UDA, Y., SUZUKI, K., MAEDA, Y. Volatile constituents of pickled Cruciferous vegetables, *Brassica campestris* var. *rapa* and *B. campestris* var. *pekinensis* (Nozawana-zuke and Hiroshimana-zuke), **Nippon Shokuhin Kogyo Gakkaishi**, v. 35, n. 5, p. 352-359, 1988.

VAN EYLEN, D., BELLOSTAS, N., STROBEL, B. W., OEY, I., HENDRIX, M., VAN LOEY, A., SØRENSEN, H., SØRENSEN, J. C. Influence of pressure/temperature treatments on glucosinolate conversion in broccoli (*Brassica oleracea* L. cv *Italica*) heads, **Food Chemistry**, v. 112, n. 3, p. 646-653, 2008.

VARGAS S., R., PEREZ G., R. M., PEREZ G., S., ZAVALA S., M. A., PEREZ G., C. Antiuro lithiatic activity of *Raphanus sativus* aqueous extract on rats, **Journal of Ethnopharmacology**, v. 68, p. 335-338, 1999.

WANDERLEY, M. G. L., SHEPHERD, G. J., GIULIETTI, A. M., MELHEM, T. S., BITTRICH, V., KAMEYAMA, C., **Flora fanerogâmica do Estado de São Paulo**, FAPESP, Editora Hucitec, São Paulo, Brasil, p. 58, 2002.

WALLBANK, B. E., WHEATLEY, G. A., Volatile constituents from cauliflower and Other Crucifers, **Phytochemistry**, v. 15, p. 763-766, 1976.

ZHANG, Y., LI, J., TANG, L., Cancer-preventive isothiocyanates: dichotomous modulators of oxidative stress, **Free Radical Biology e Medicine**, v. 38, p. 70-77, 2005.

ZHANG, Y., TALALAY, P., CHO, C. G., POSNER, G. H., A major inducer of anticarcinogenic protective enzymes from broccoli: isolation and elucidation of structure, **Proceedings of the National Acadademy of Sciences U. S. A.**, v. 89, p. 2399-2403, 1992.

ZHU, J., CAO, X. L., BEAUCHAMP, R. Determination of 2-butoxyethanol emissions from selected consumer products and its application in assessment of inhalation exposure associated with cleaning tasks, **Environment International**, v. 26, p. 589-597, 2001.

ANEXOS

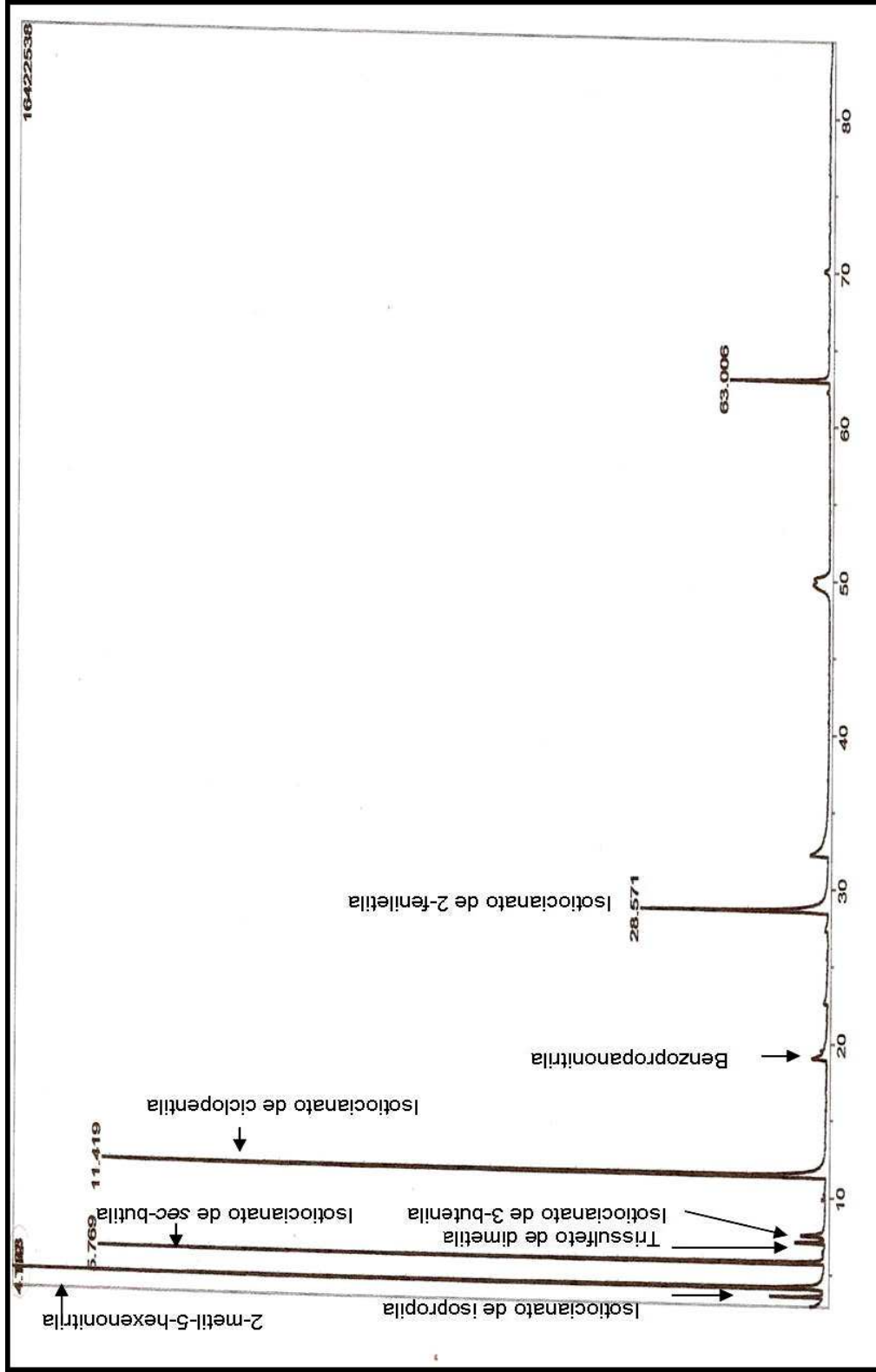


Figura 39: Cromatograma obtido por CG/EM do nabo com casca proveniente da Feira-livre adquirido em dezembro (NCFV).

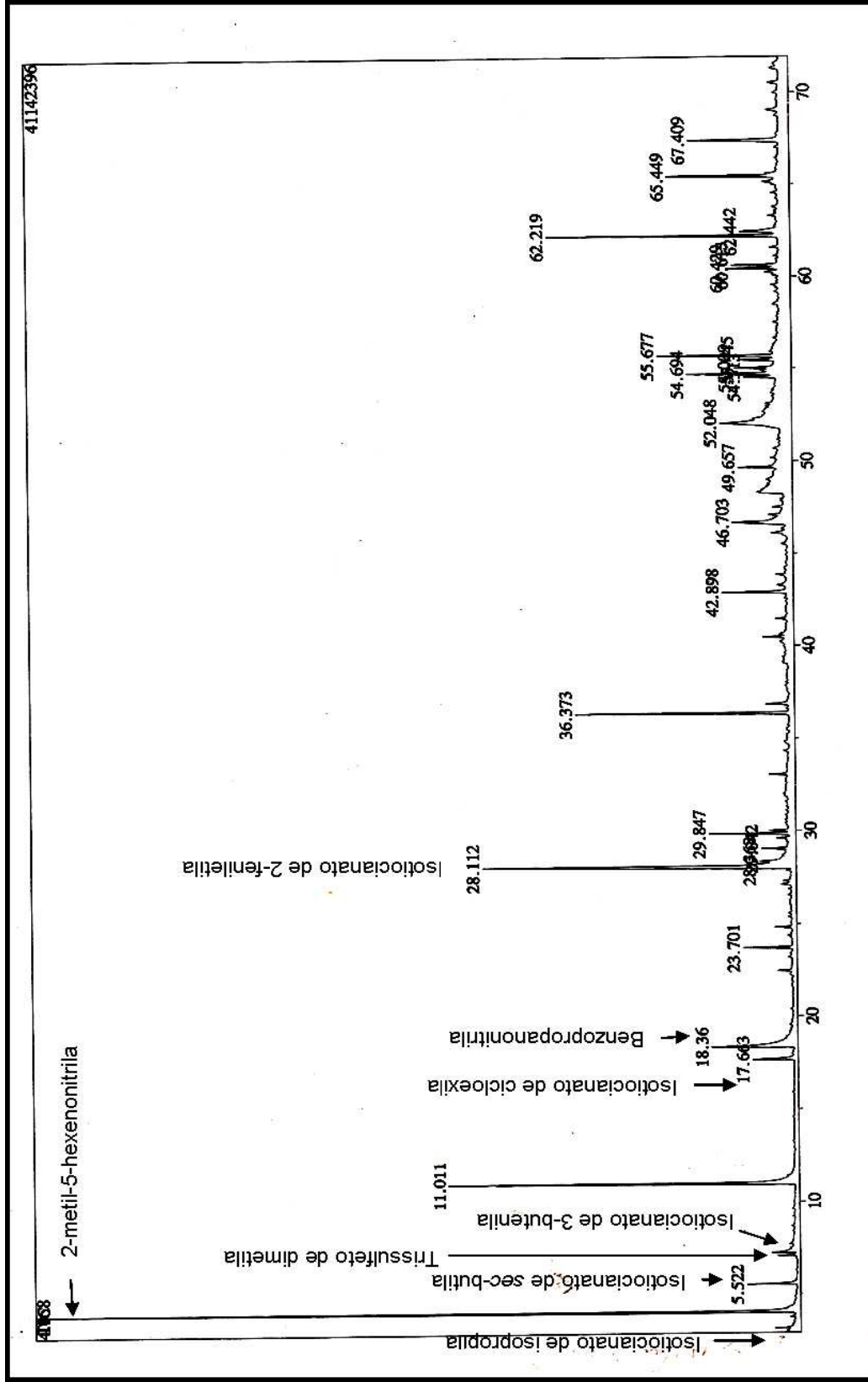


Figura 40: Cromatograma obtido por CG/EM do nabo sem casca proveniente da Feira-livre adquirido em dezembro (NSFV).

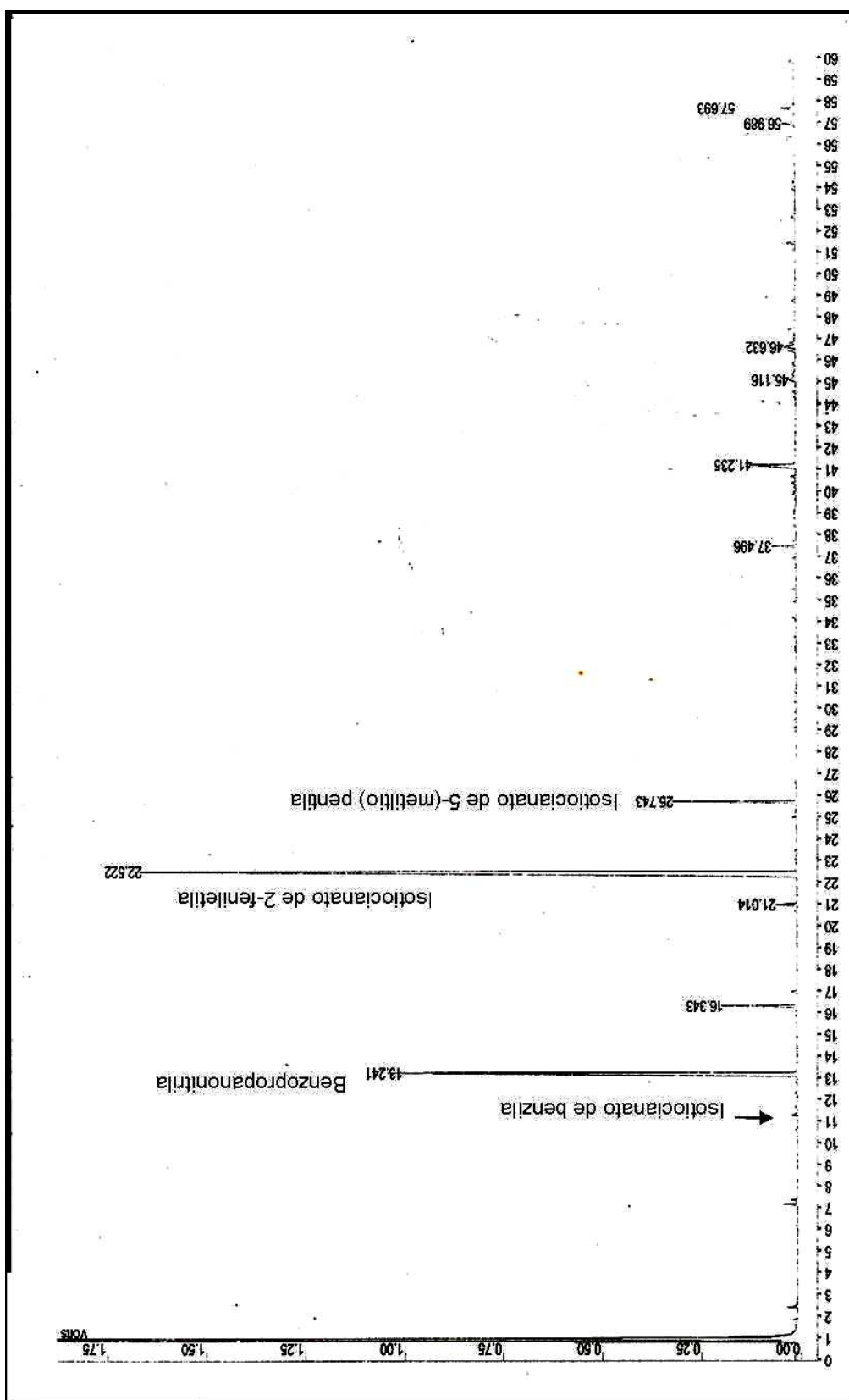


Figura 41: Cromatograma obtido por CG-DIC do nabo com casca proveniente da Feira-livre adquirido em junho (NCFI).

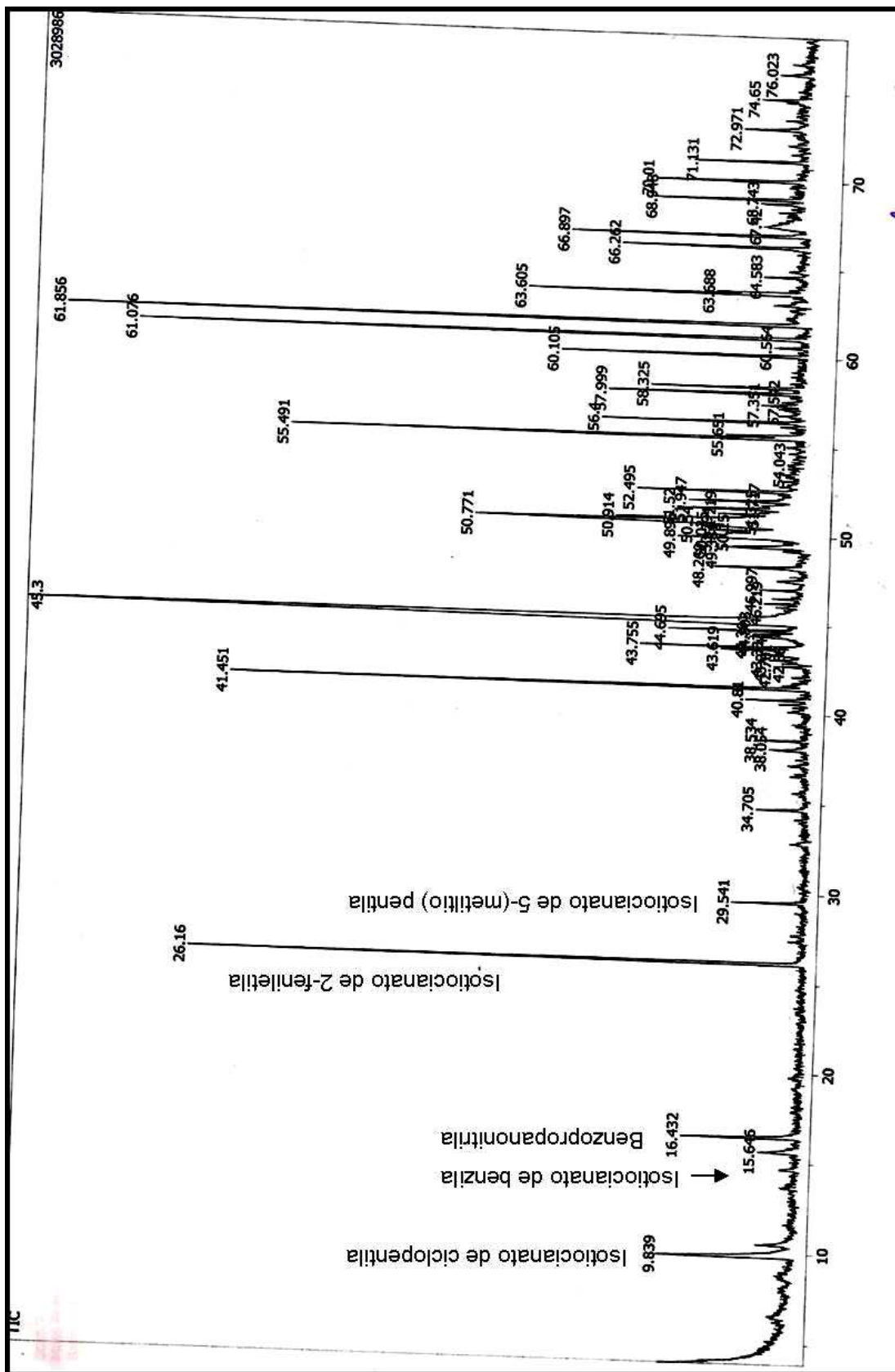


Figura 42: Cromatograma obtido por CG/EM do nabo com casca proveniente da Feira-livre adquirido em junho (NCFI).

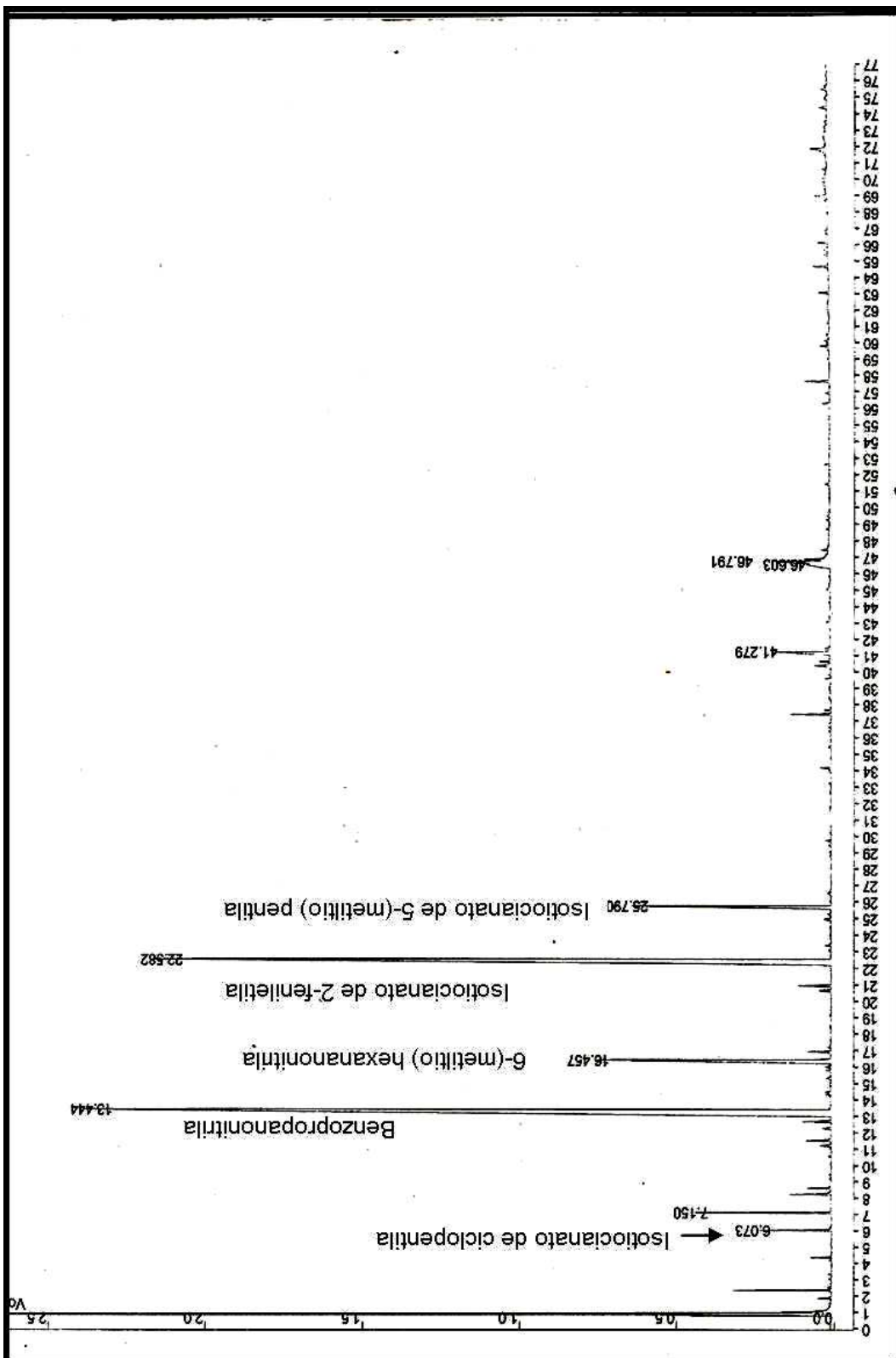


Figura 43: Cromatograma obtido por CG-DIC do nabo sem casca proveniente da Feira-livre adquirido em junho (NSFI).

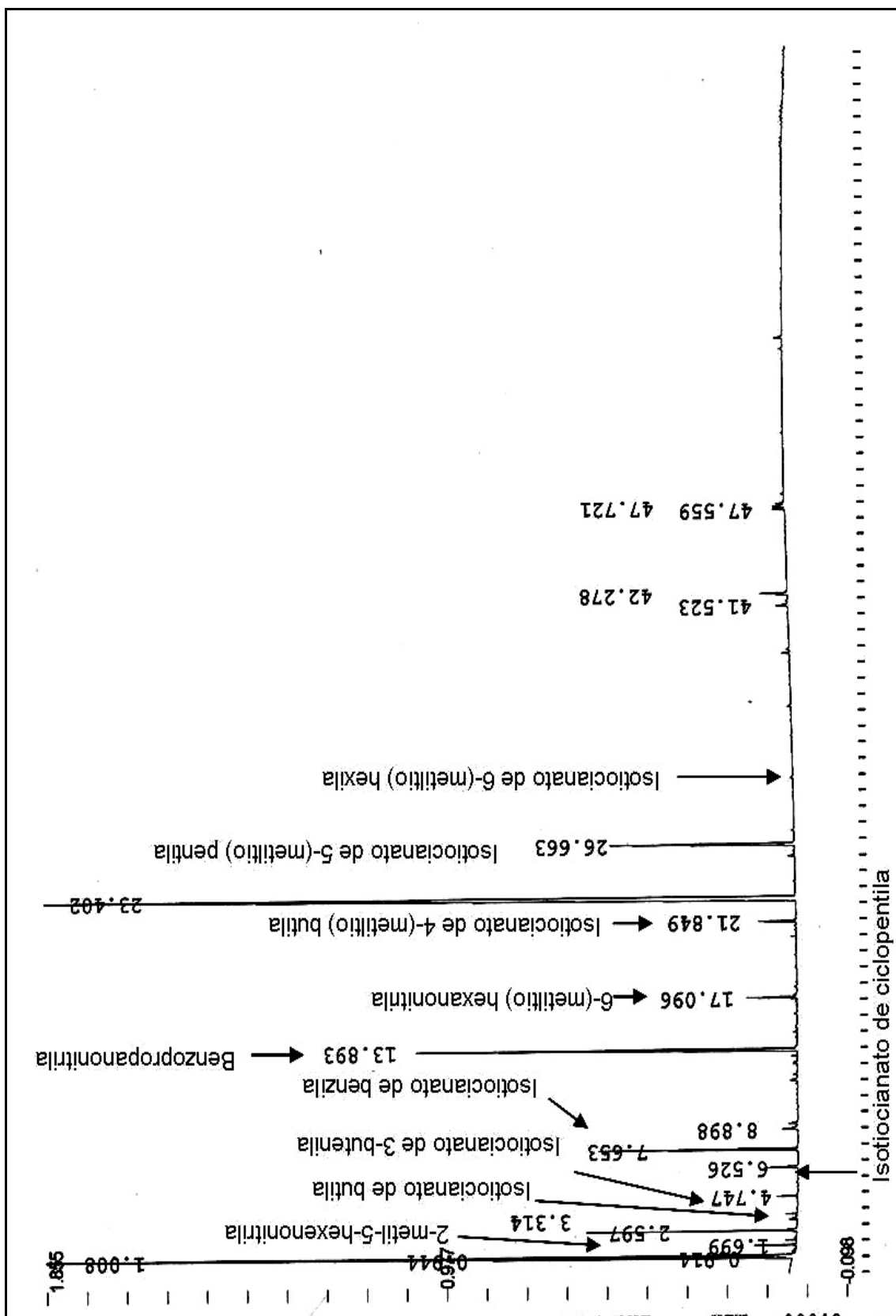


Figura 45: Cromatograma obtido por CG-DIC do nabo com casca proveniente do Supermercado adquirido em janeiro (NCSV).

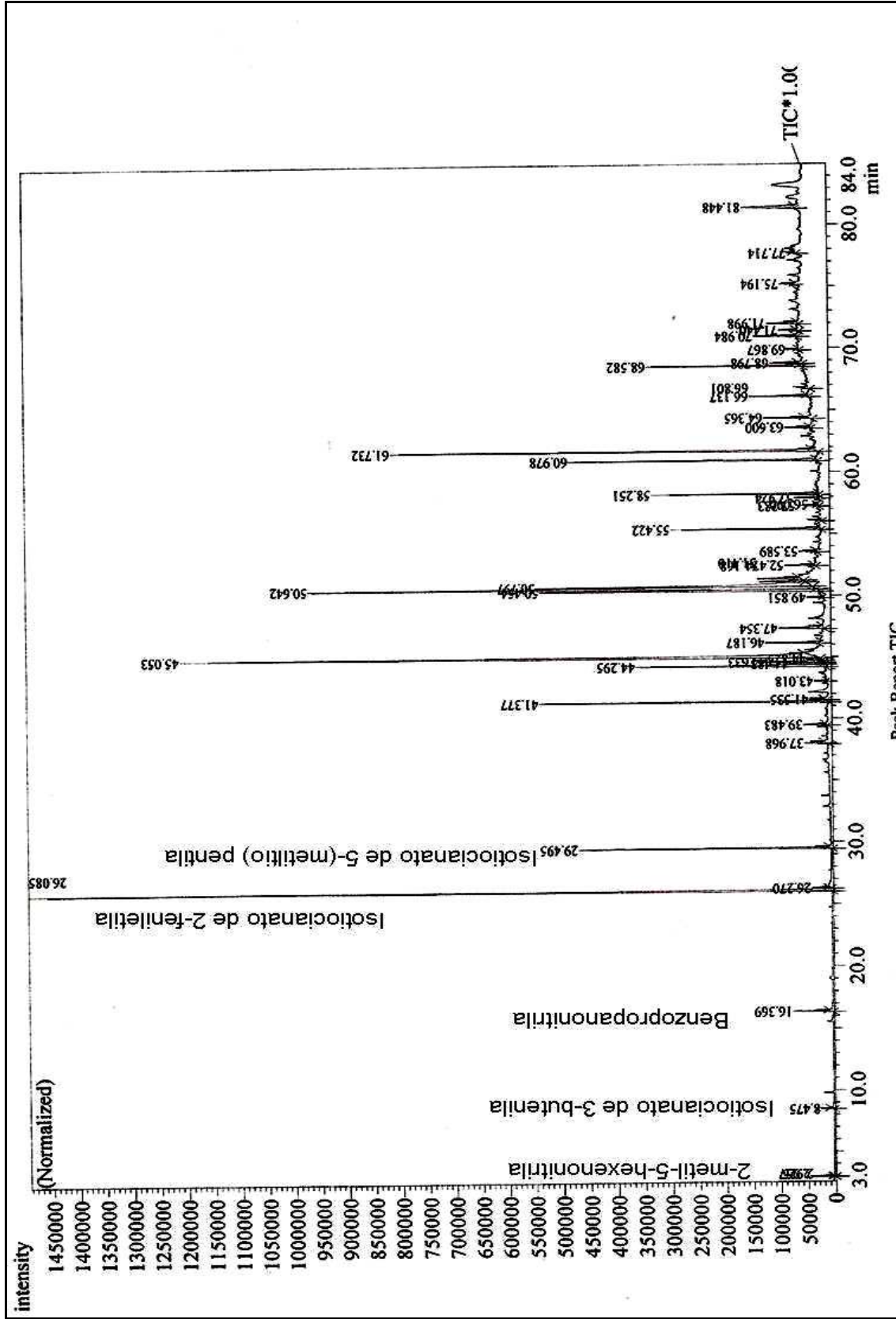


Figura 46: Cromatograma obtido por CG/EM do nabo com casca proveniente do Supermercado adquirido em janeiro (NCSV).

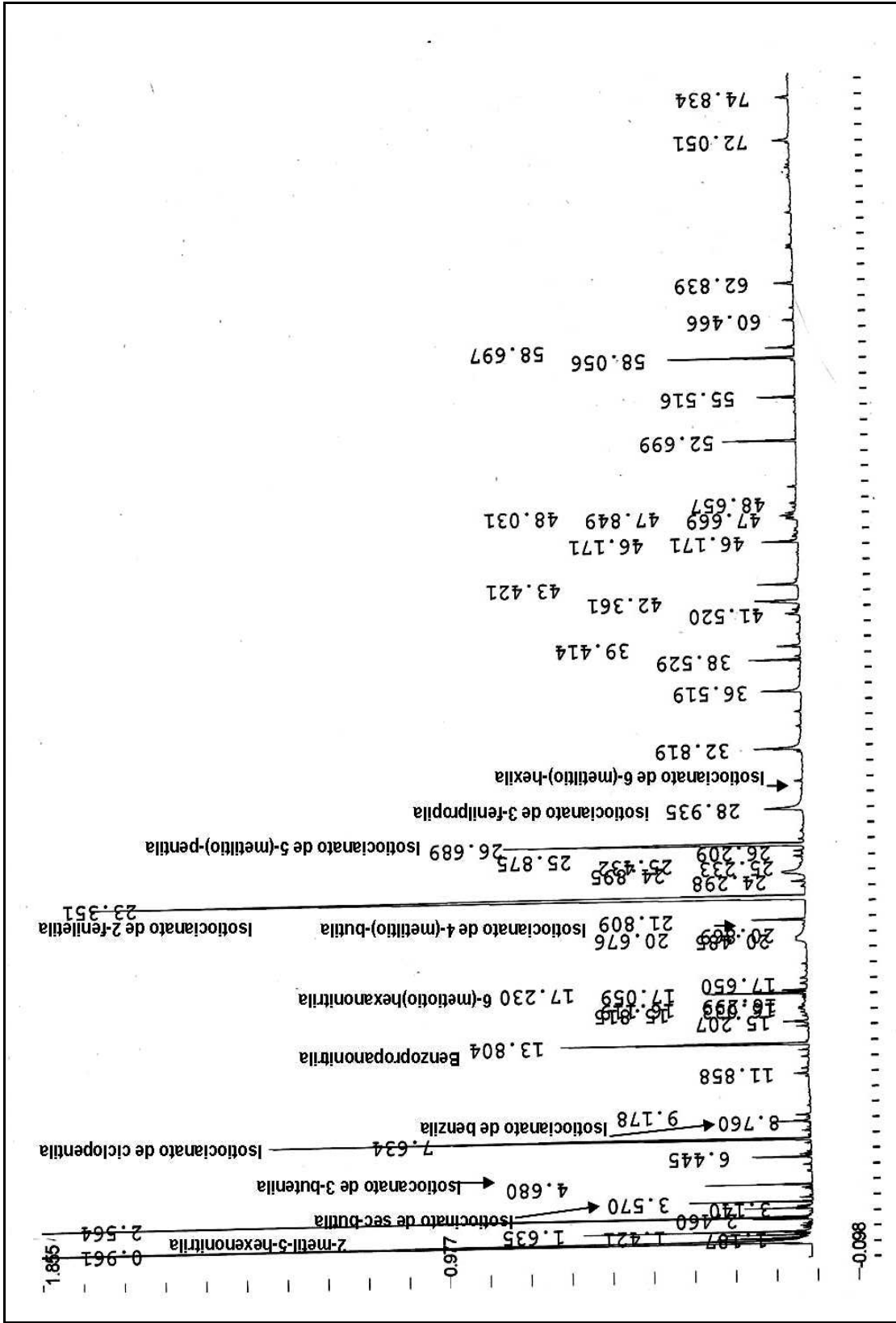


Figura 47: Cromatograma obtido por CG-DIC do nabo sem casca proveniente do Supermercado adquirido em janeiro (NSSV).

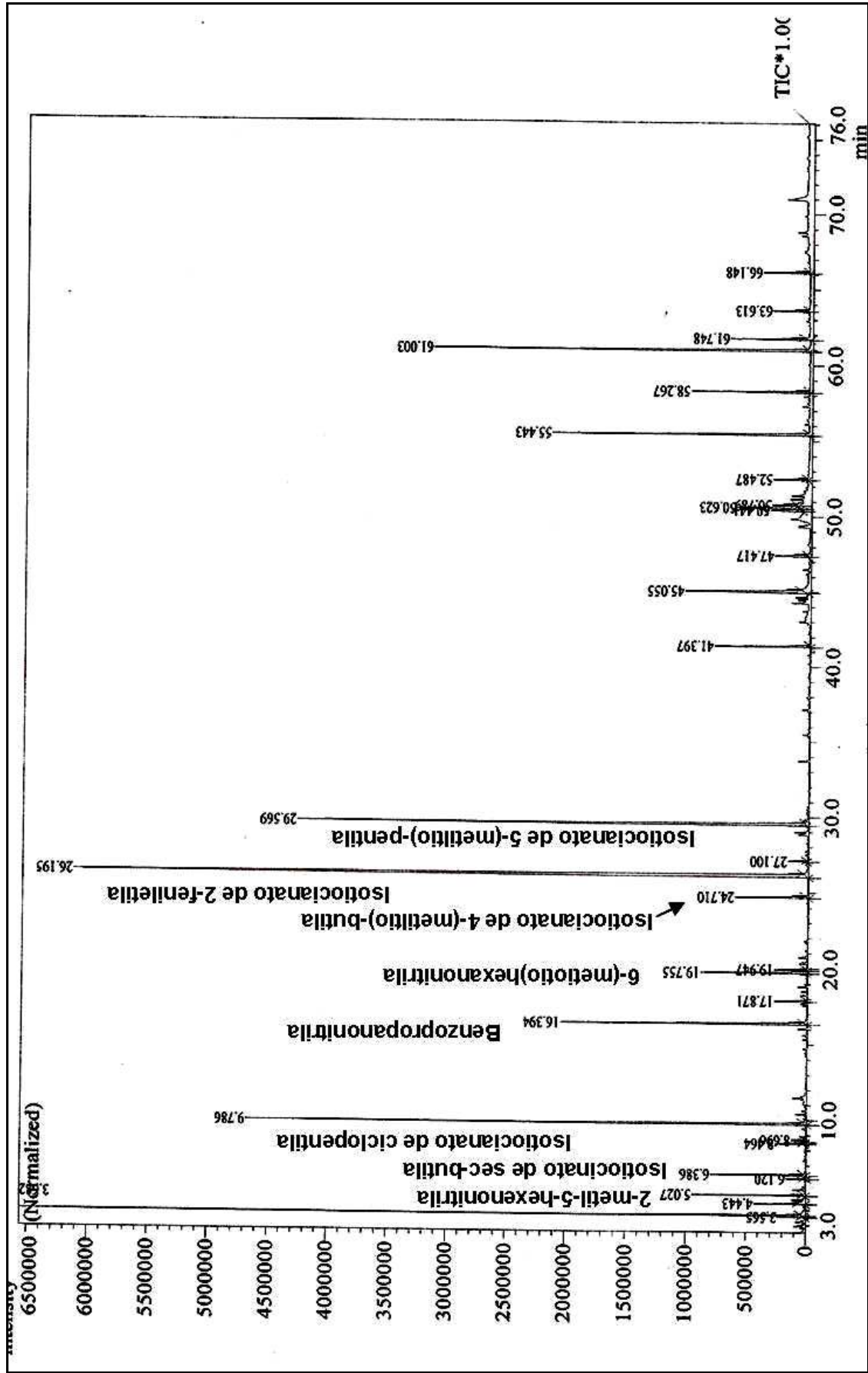


Figura 48: Cromatograma obtido por CG/EM do nabo sem casca proveniente do Supermercado adquirido em janeiro (NSSV).

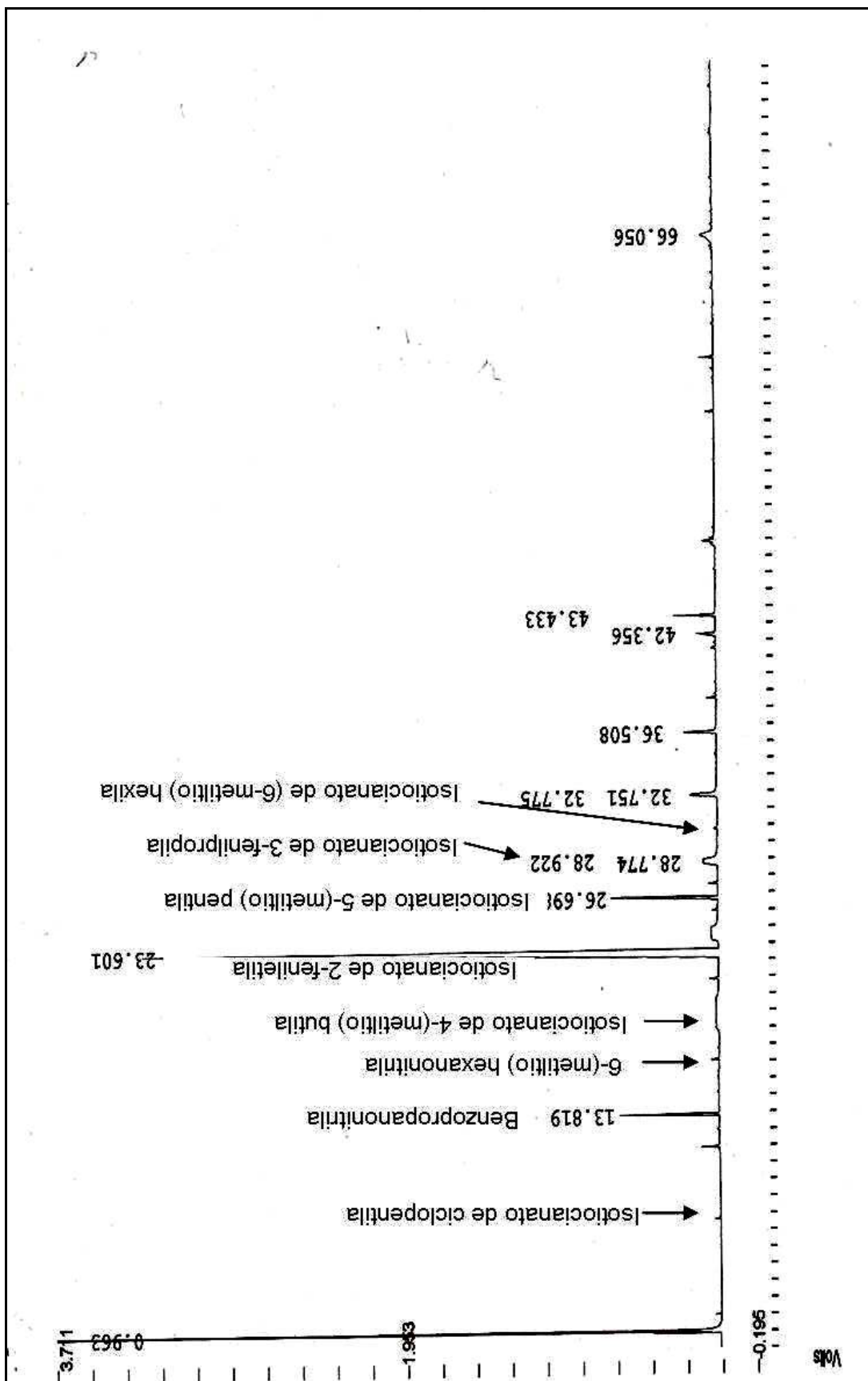


Figura 49: Cromatograma obtido por CG-DIC do nabo com casca proveniente do Supermercado adquirido em julho (NCSI).

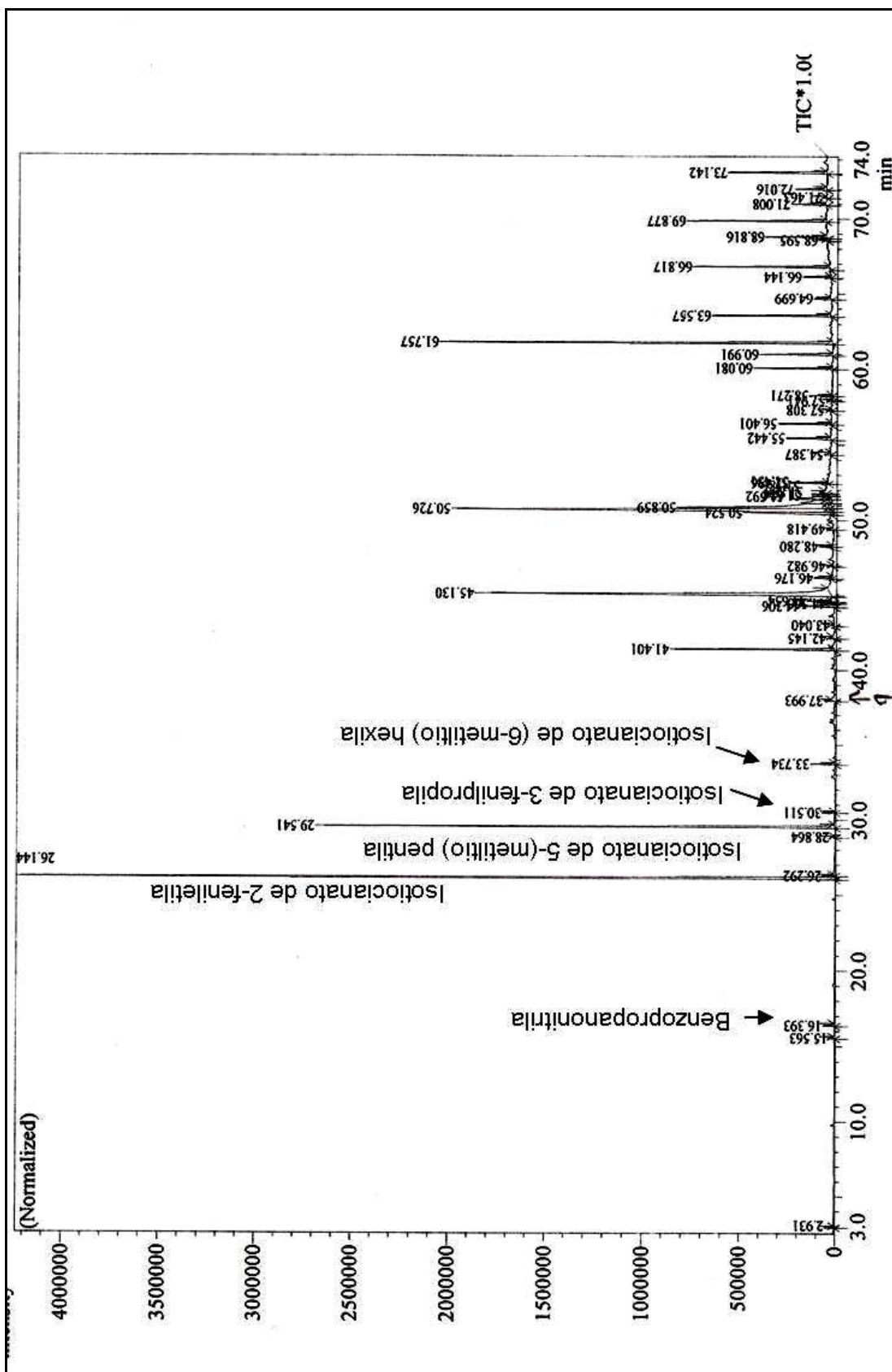


Figura 50: Cromatograma obtido por CG/EM do nabo com casca proveniente do Supermercado adquirido em julho (NCST).

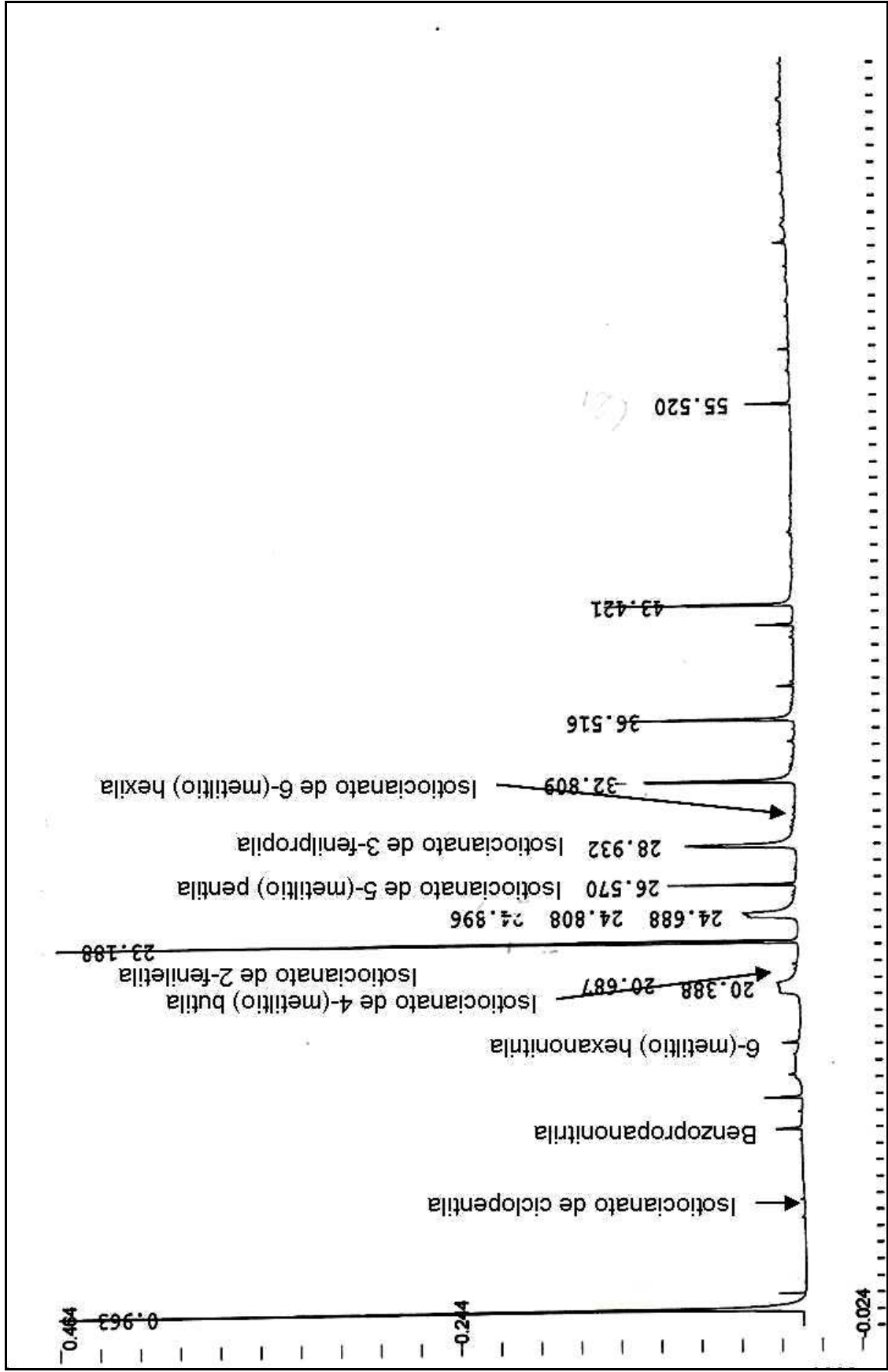


Figura 51: Cromatograma obtido por CG-DIC do nabo sem casca proveniente do Supermercado adquirido em julho (NSSI).

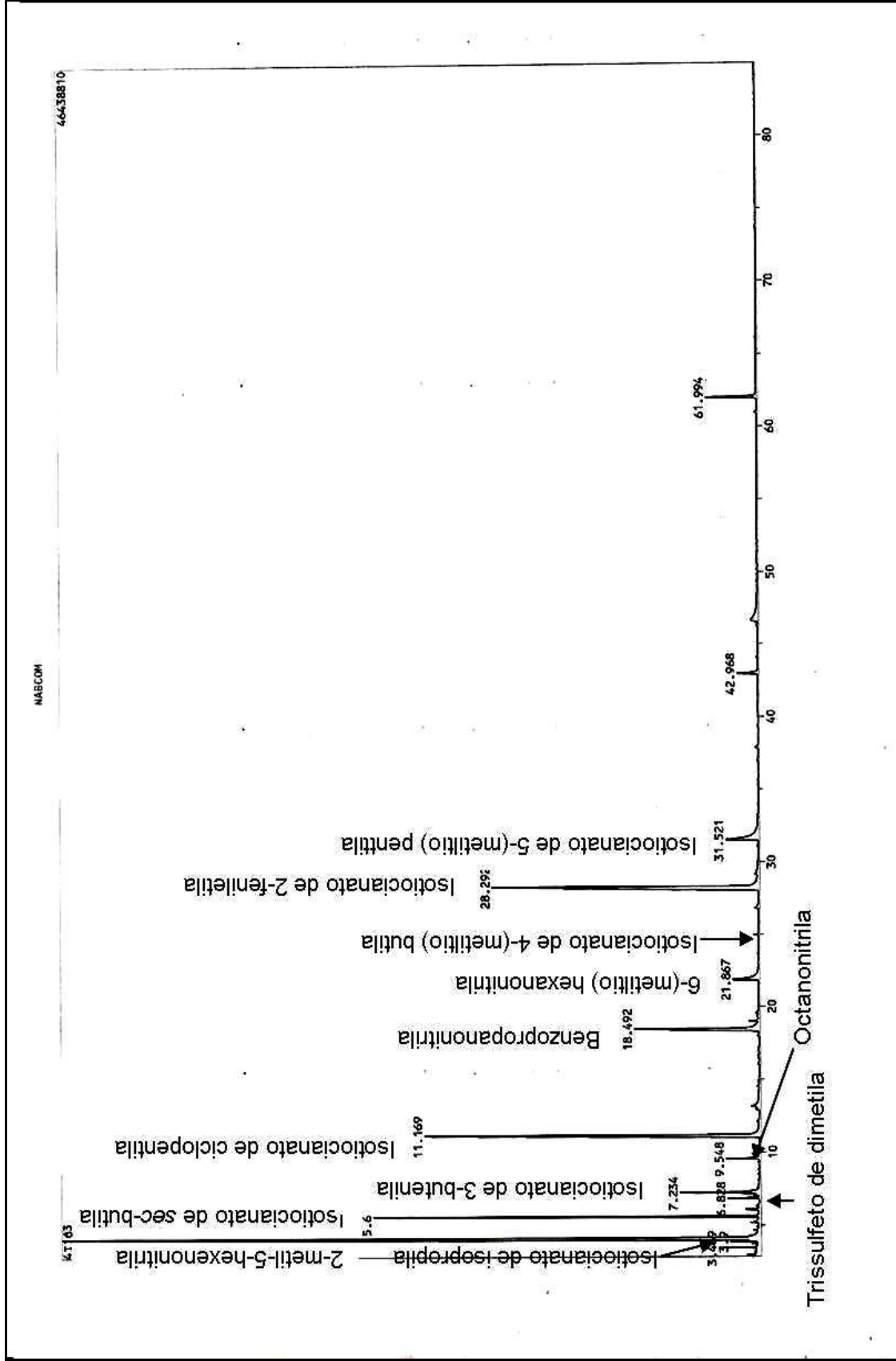


Figura 52: Cromatograma obtido por CG/EM do nabo com casca proveniente do Hortifruiti adquirido em fevereiro (NCHV).

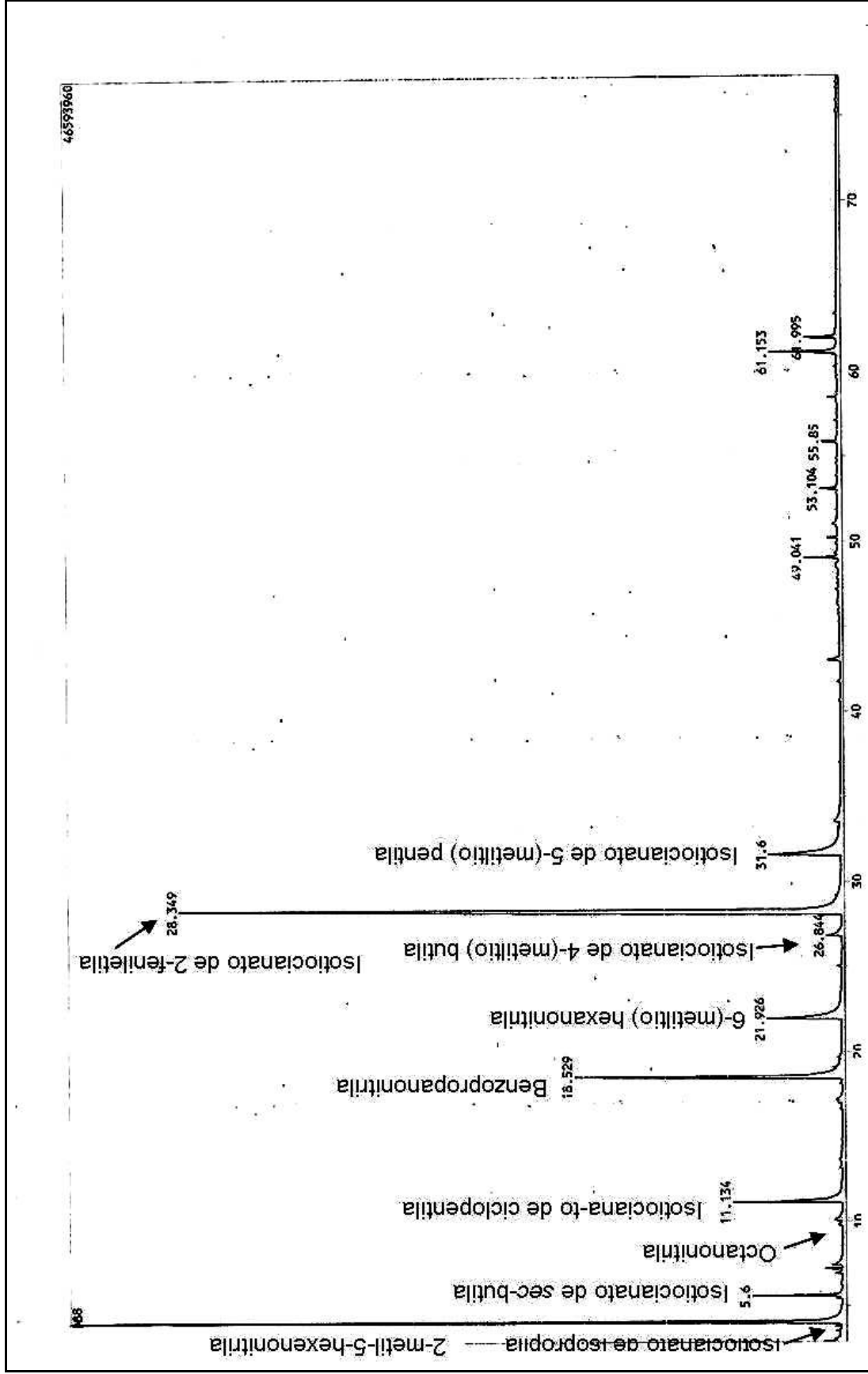


Figura 53: Cromatograma obtido por CG/EM do nabo sem casca proveniente do Hortifruiti adquirido em fevereiro (NSHV).

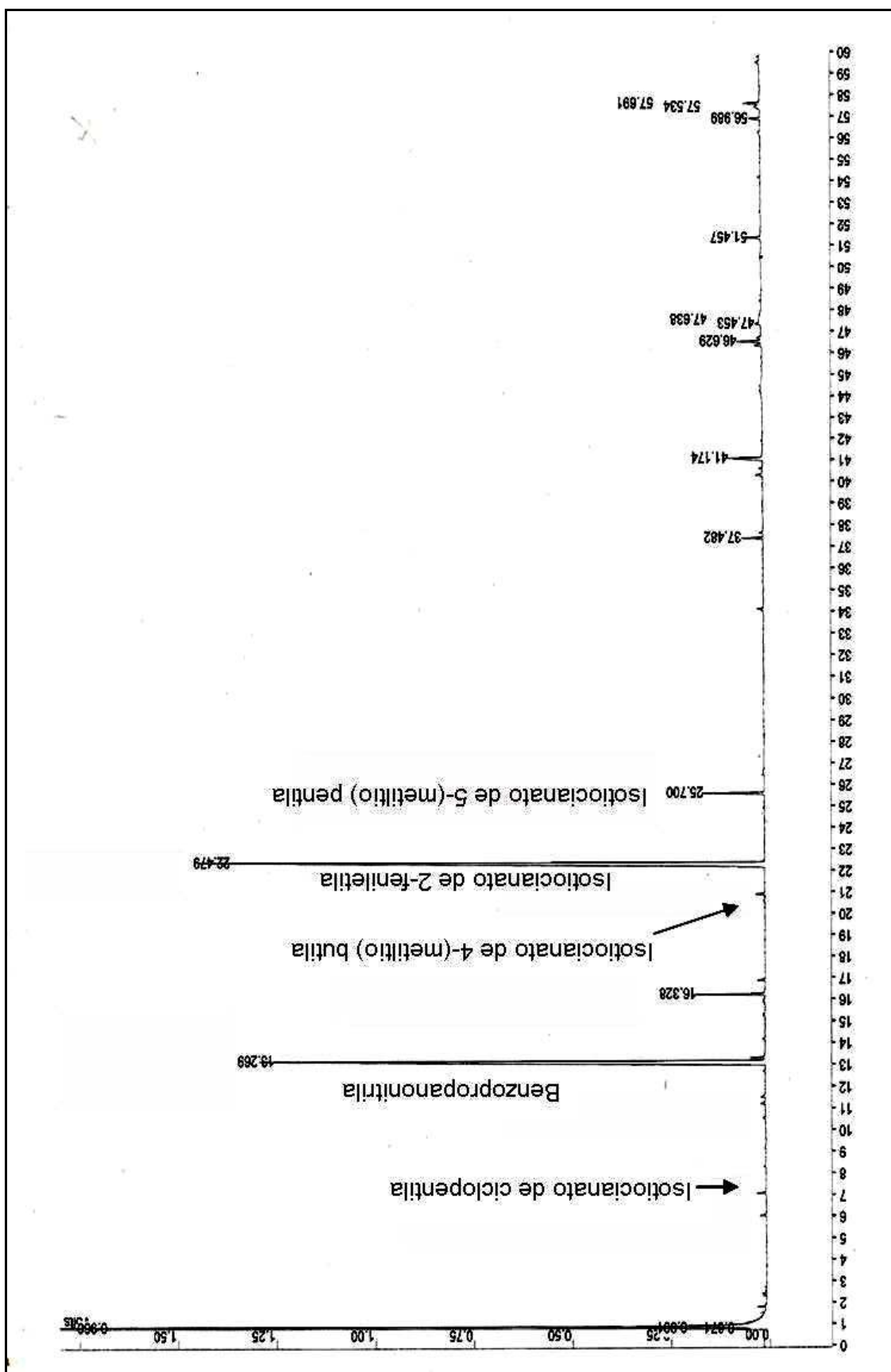


Figura 54: Cromatograma obtido por CG-DIC do nabo com casca proveniente do Hortifruti adquirido em julho (NCHI).

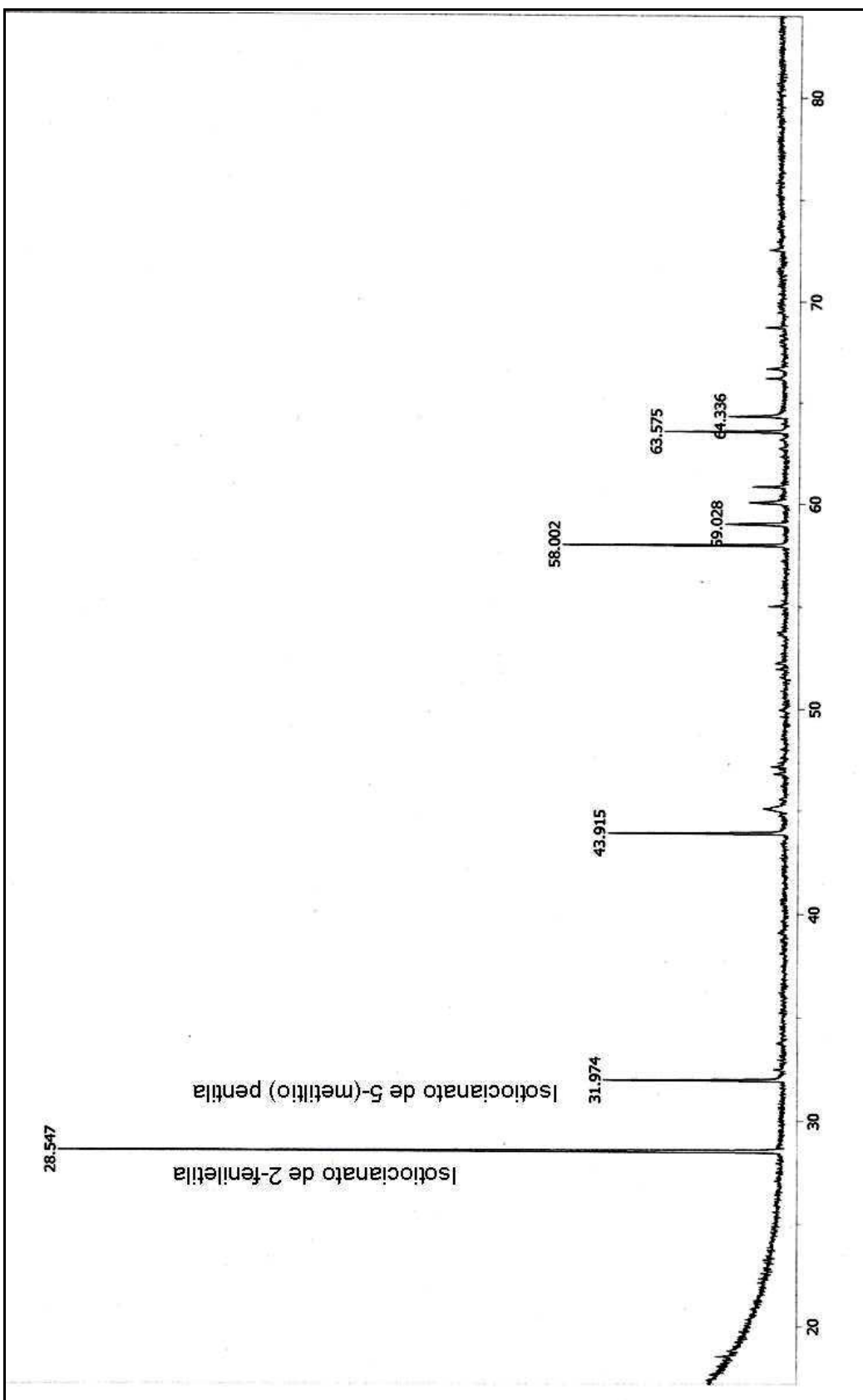


Figura 55: Cromatograma obtido por CG/EM do nabo com casca proveniente do Hortifruti adquirido em julho (NCHI).

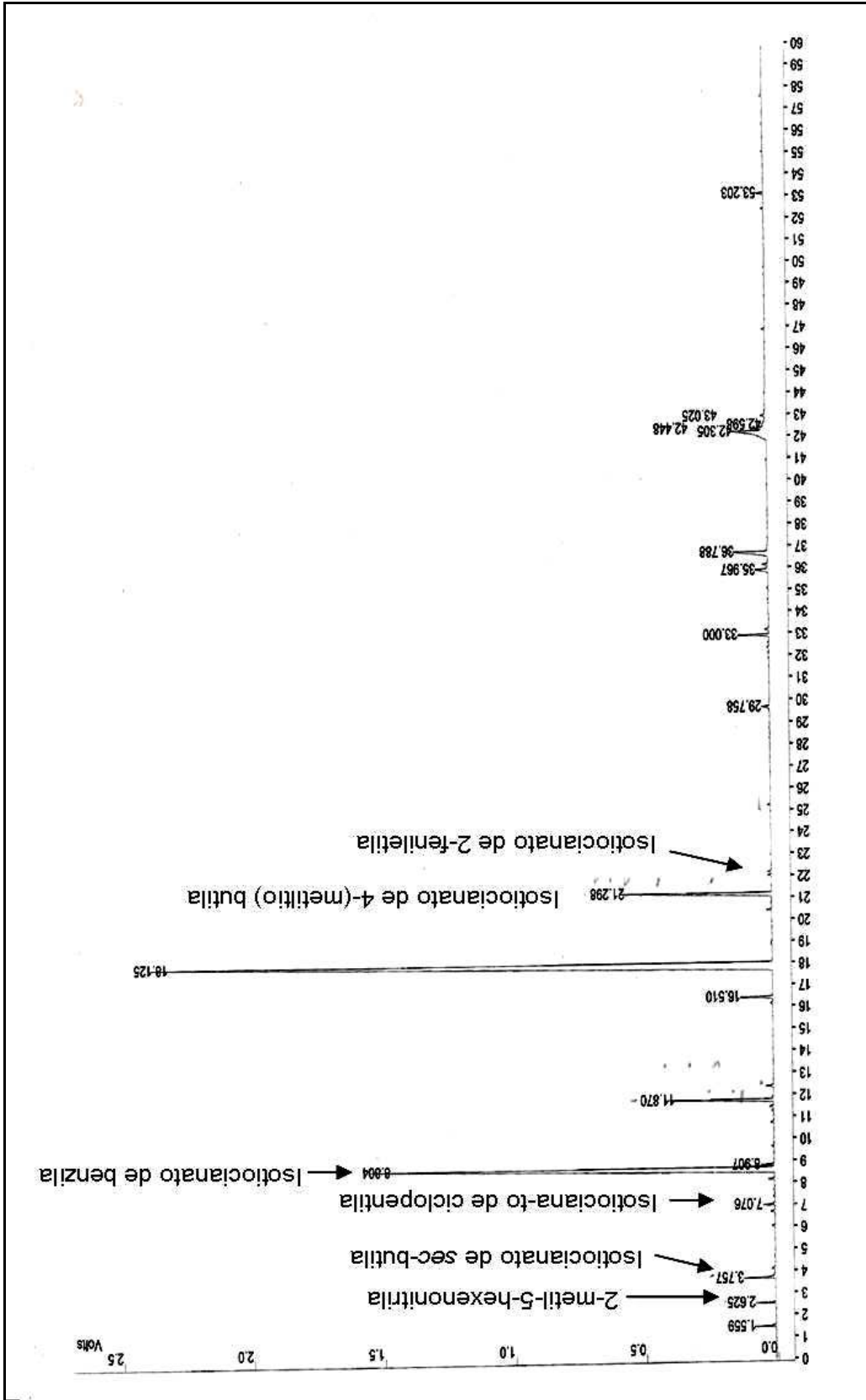


Figura 56: Cromatograma obtido por CG-DIC do nabo sem casca proveniente do Hortifruti adquirido em julho (NSHD).

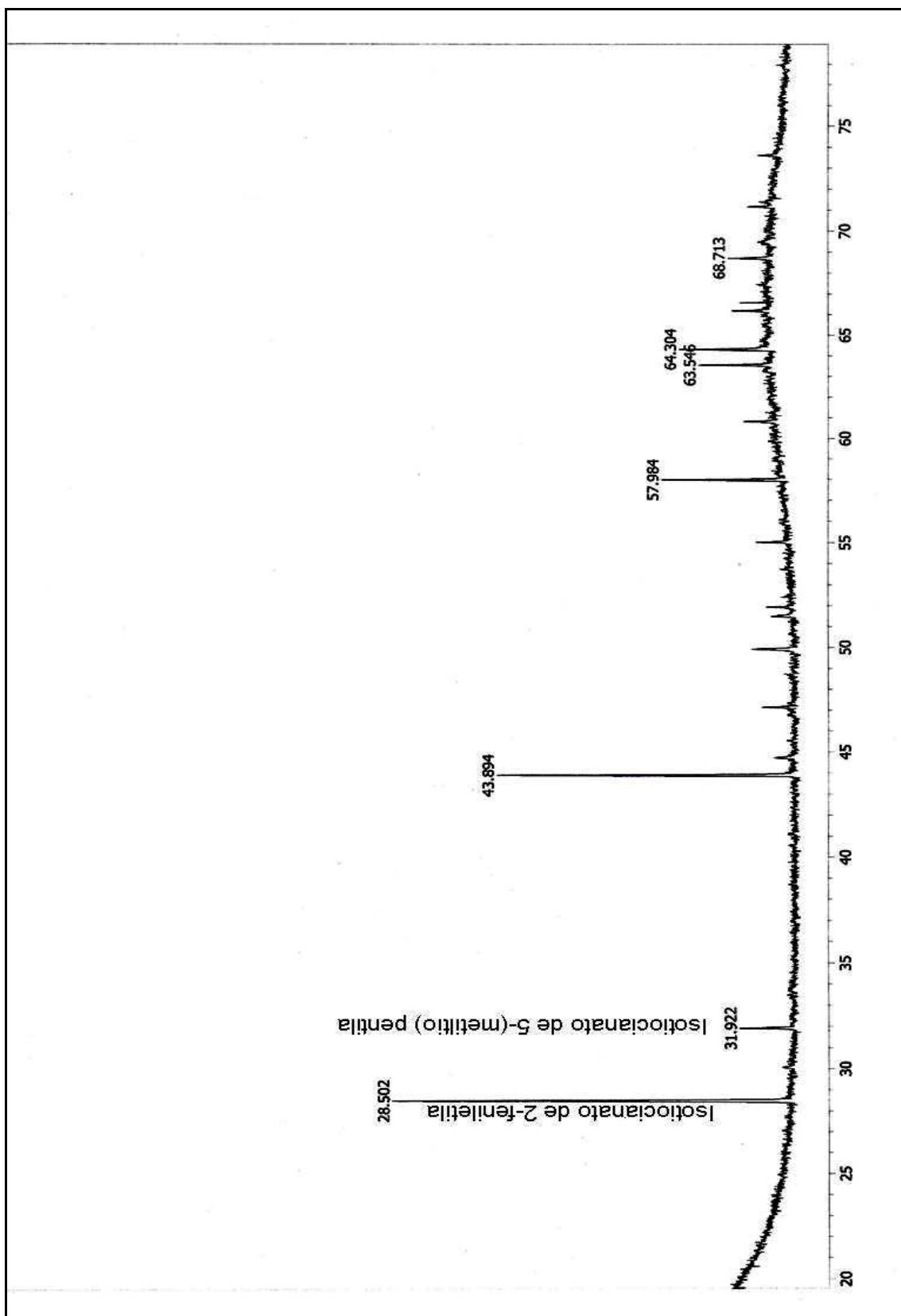


Figura 57: Cromatograma obtido por CG/EM do nabo sem casca proveniente do Hortifruti adquirido em julho (NSHI).

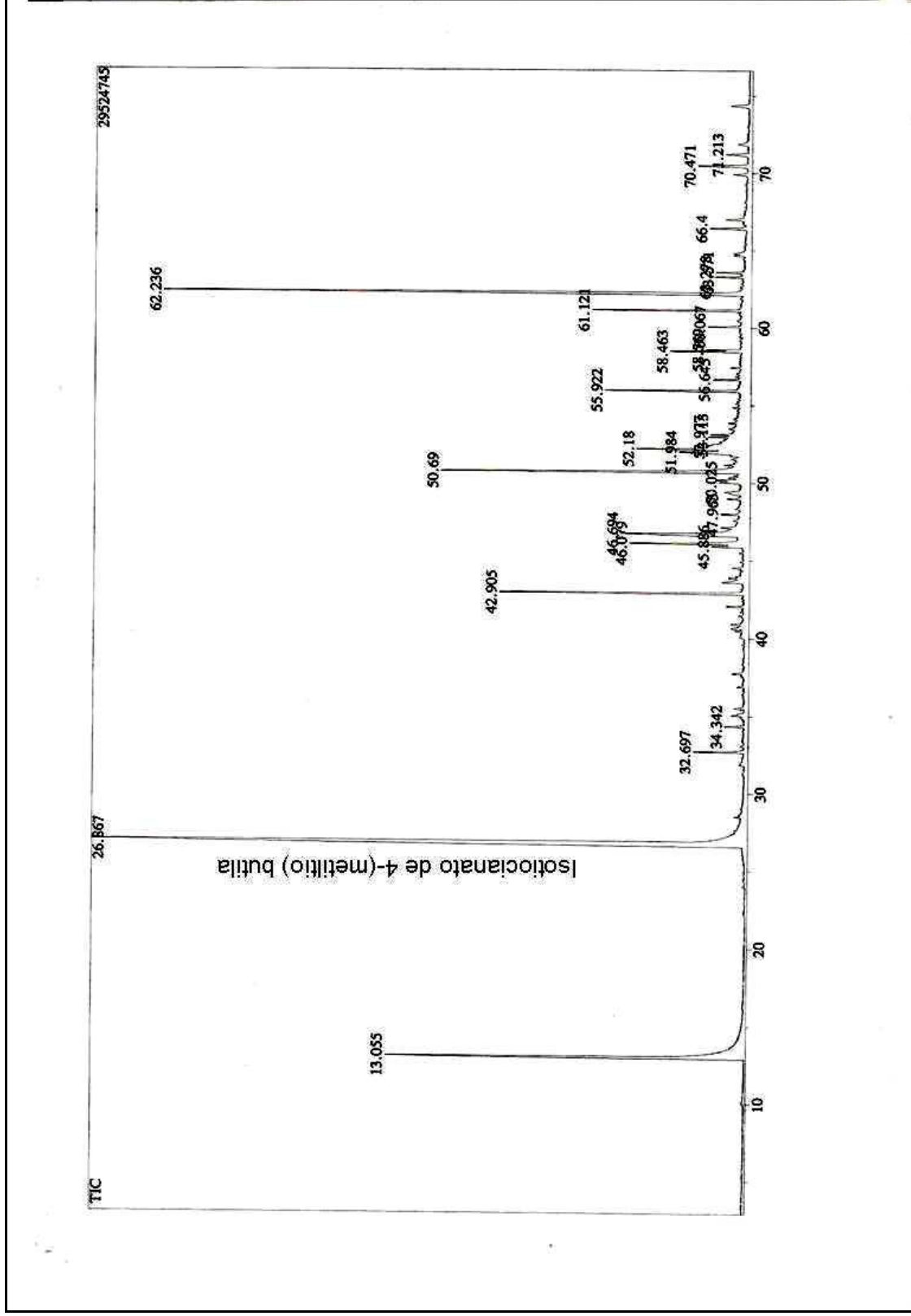


Figura 58: Cromatograma obtido por CG/EM das folhas de rúcula não refrigeradas provenientes do Supermercado adquiridas em março (RFSV).

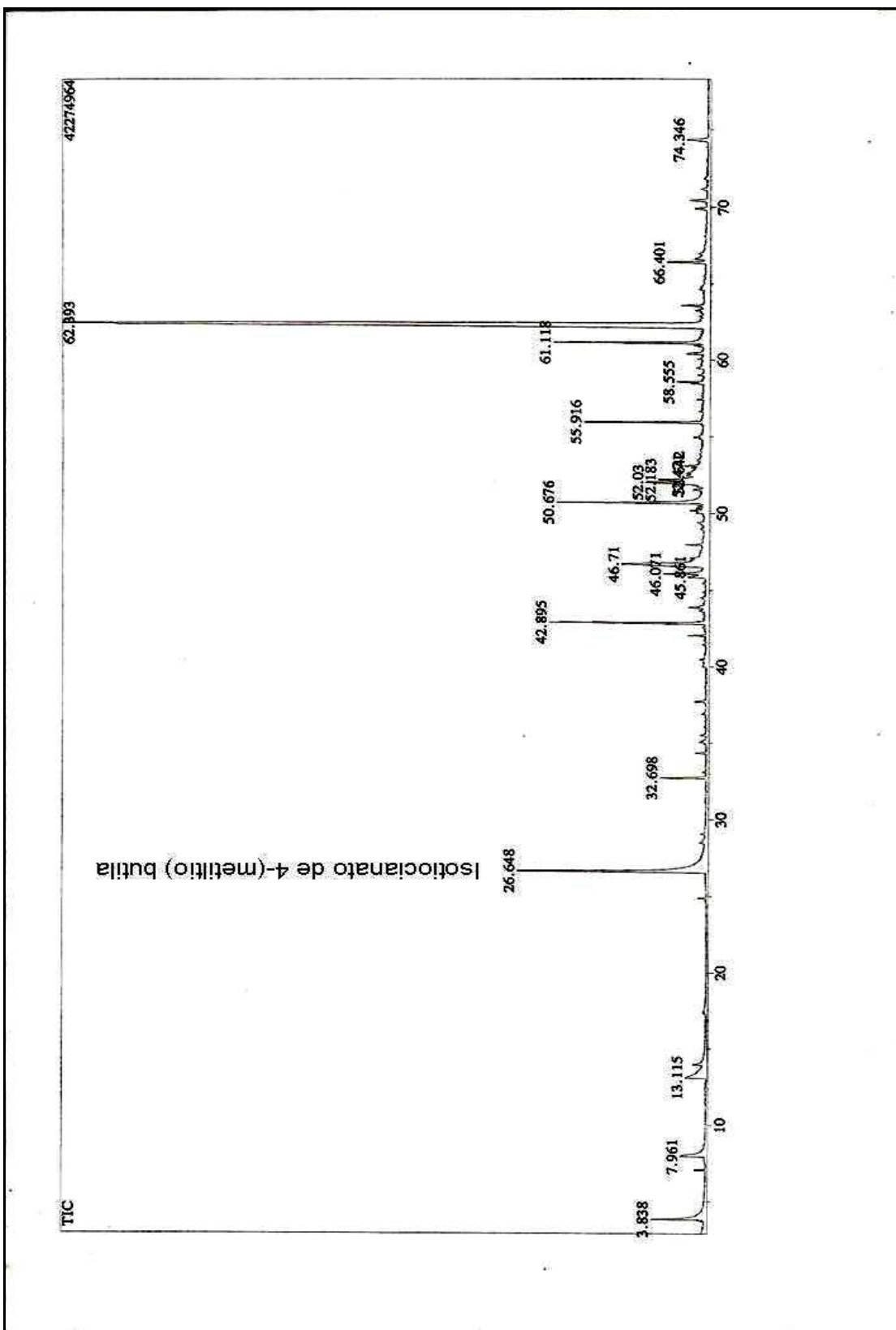


Figura 59: Cromatograma obtido por CG/EM das folhas de rúcula refrigeradas provenientes do Supermercado adquiridas em março (RRSV).

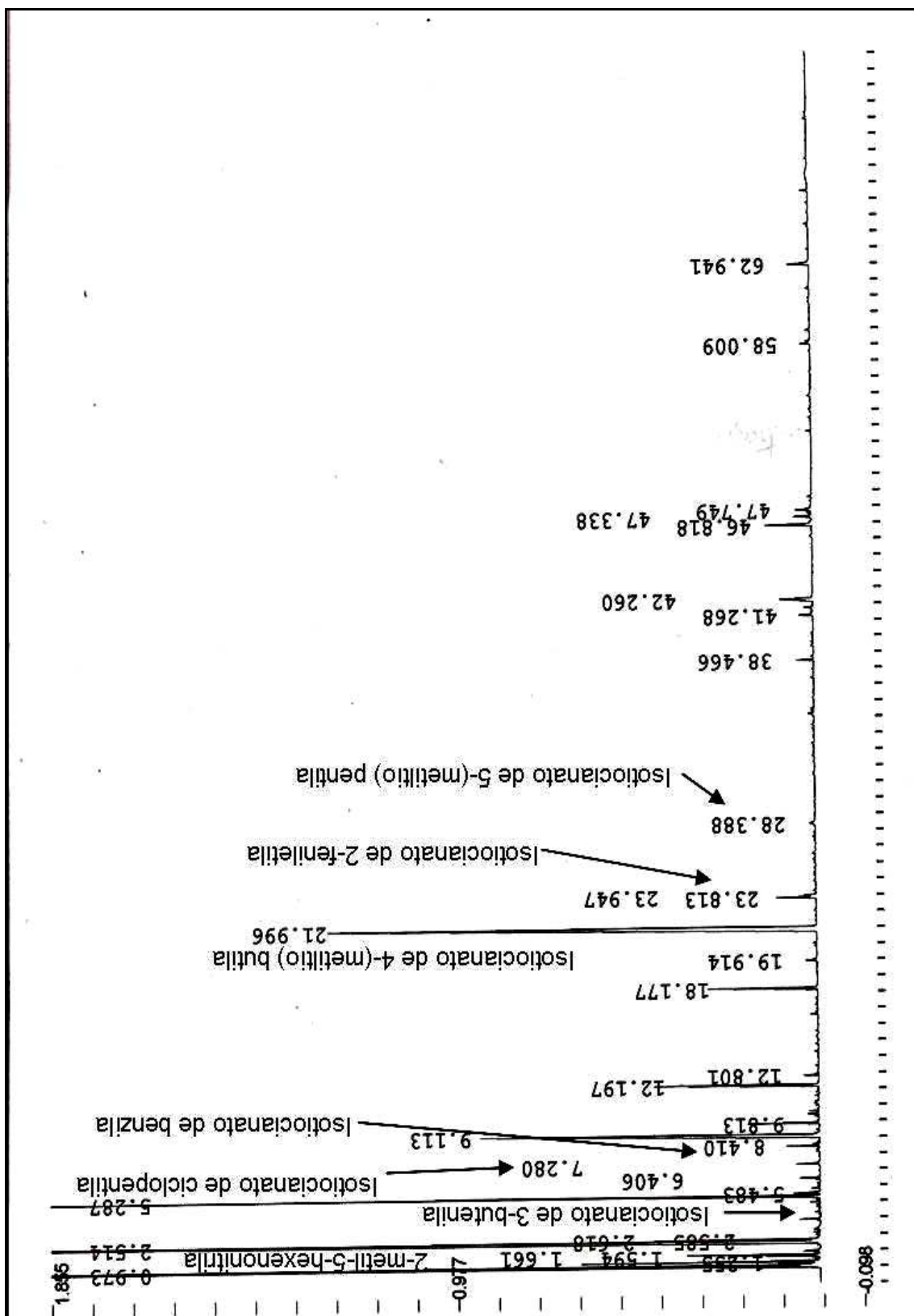


Figura 60: Cromatograma obtido por CG-DIC das folhas de rúcula não refrigeradas provenientes do Supermercado adquiridas em julho (RFSI).

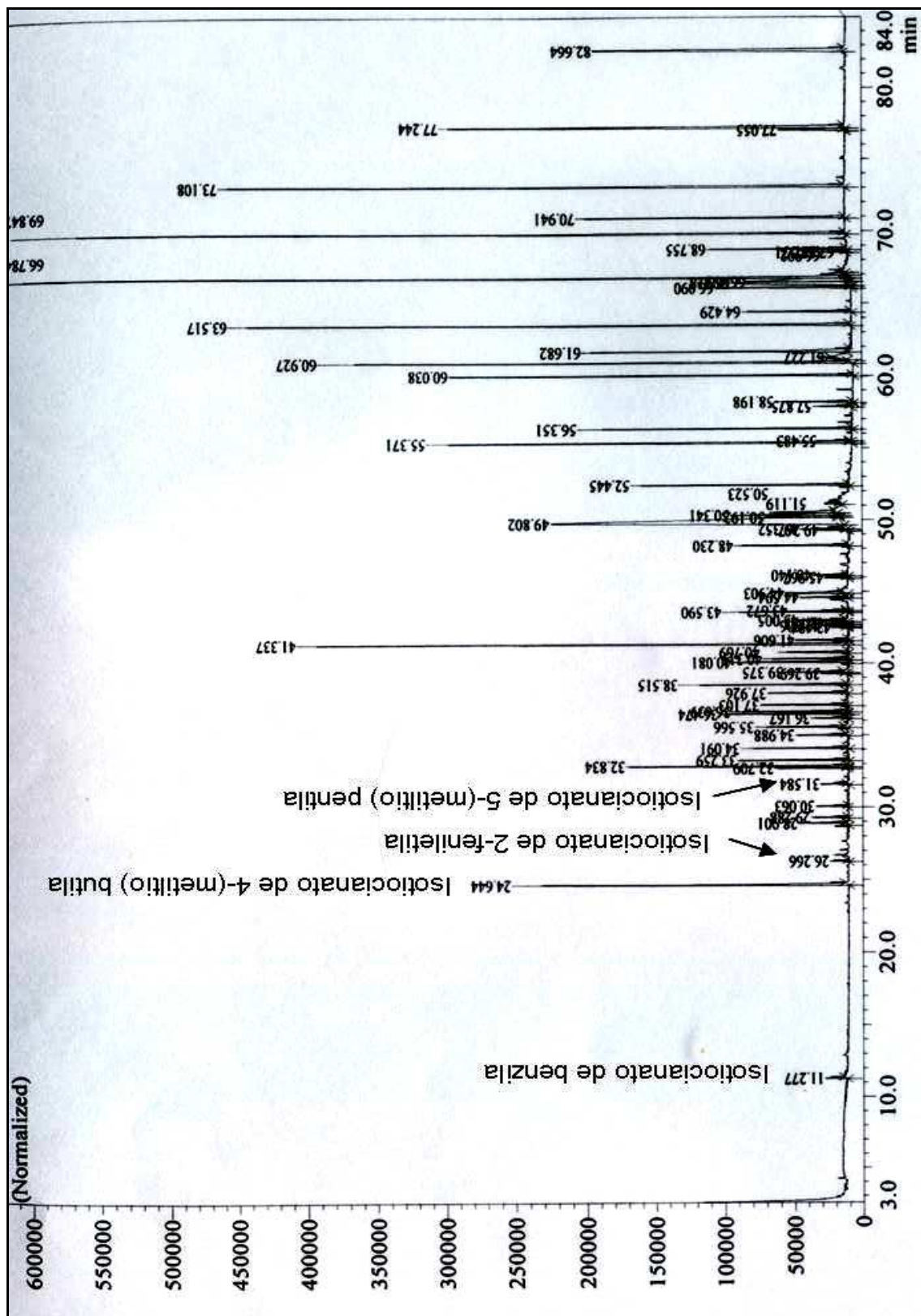


Figura 61: Cromatograma obtido por CG/EM das folhas de rúcula não refrigeradas provenientes do Supermercado adquiridas em julho (RFSI).

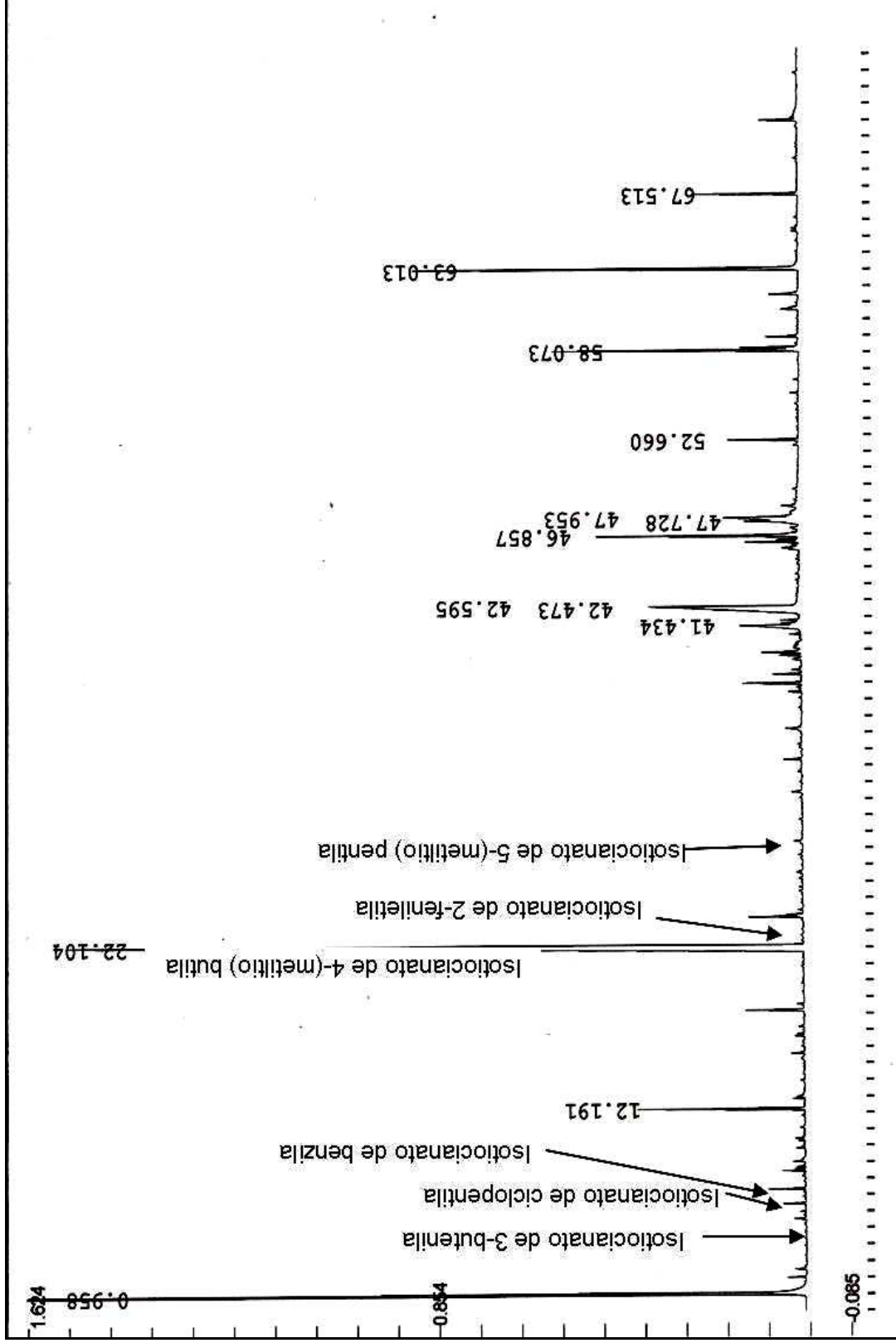


Figura 62: Cromatograma obtido por CG-DIC das folhas de rúcula refrigeradas provenientes do Supermercado adquiridas em julho (RRSI).

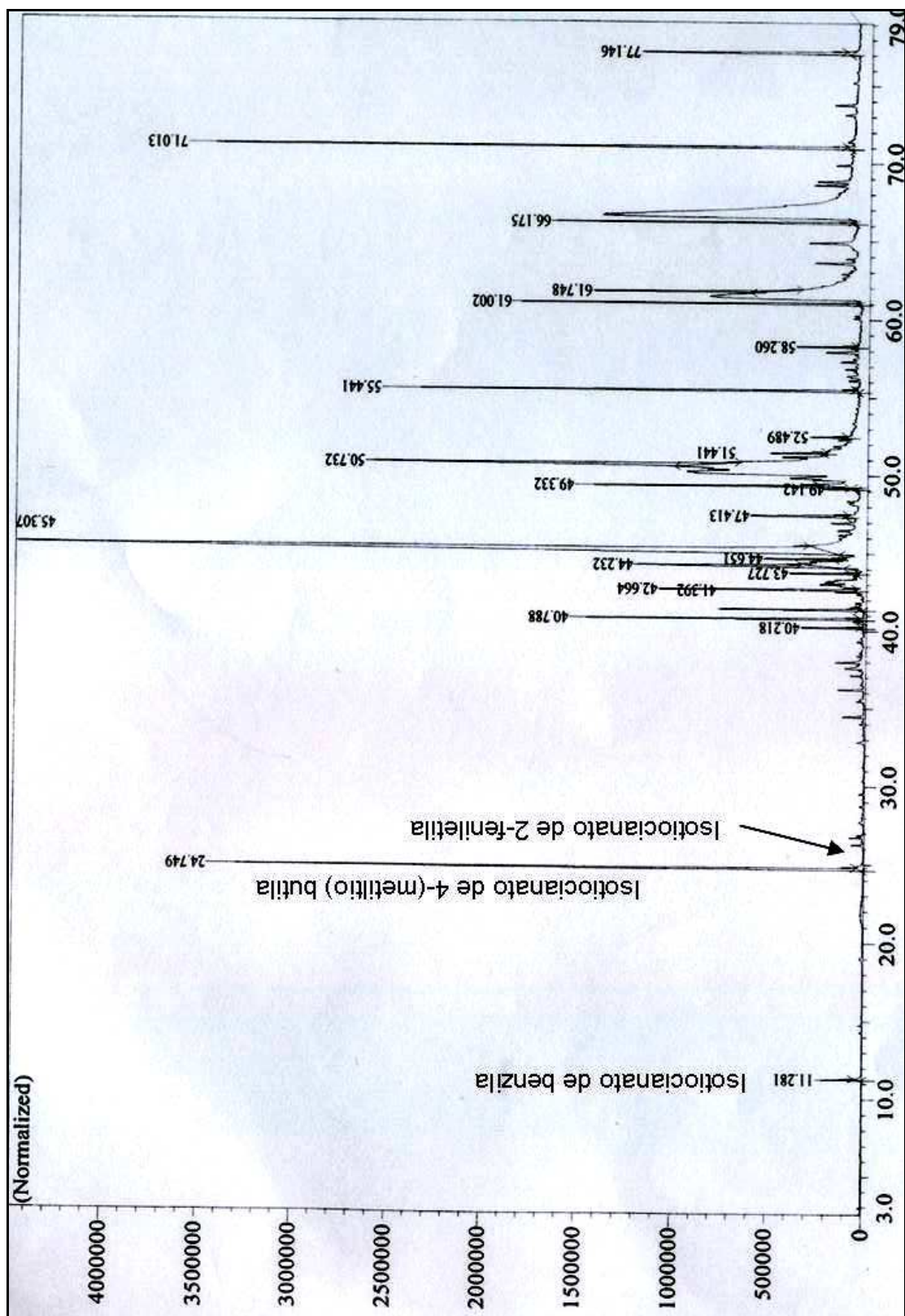


Figura 63: Cromatograma obtido por CG/EM das folhas de rúcula refrigeradas provenientes do Supermercado adquiridas em julho (RRSI).

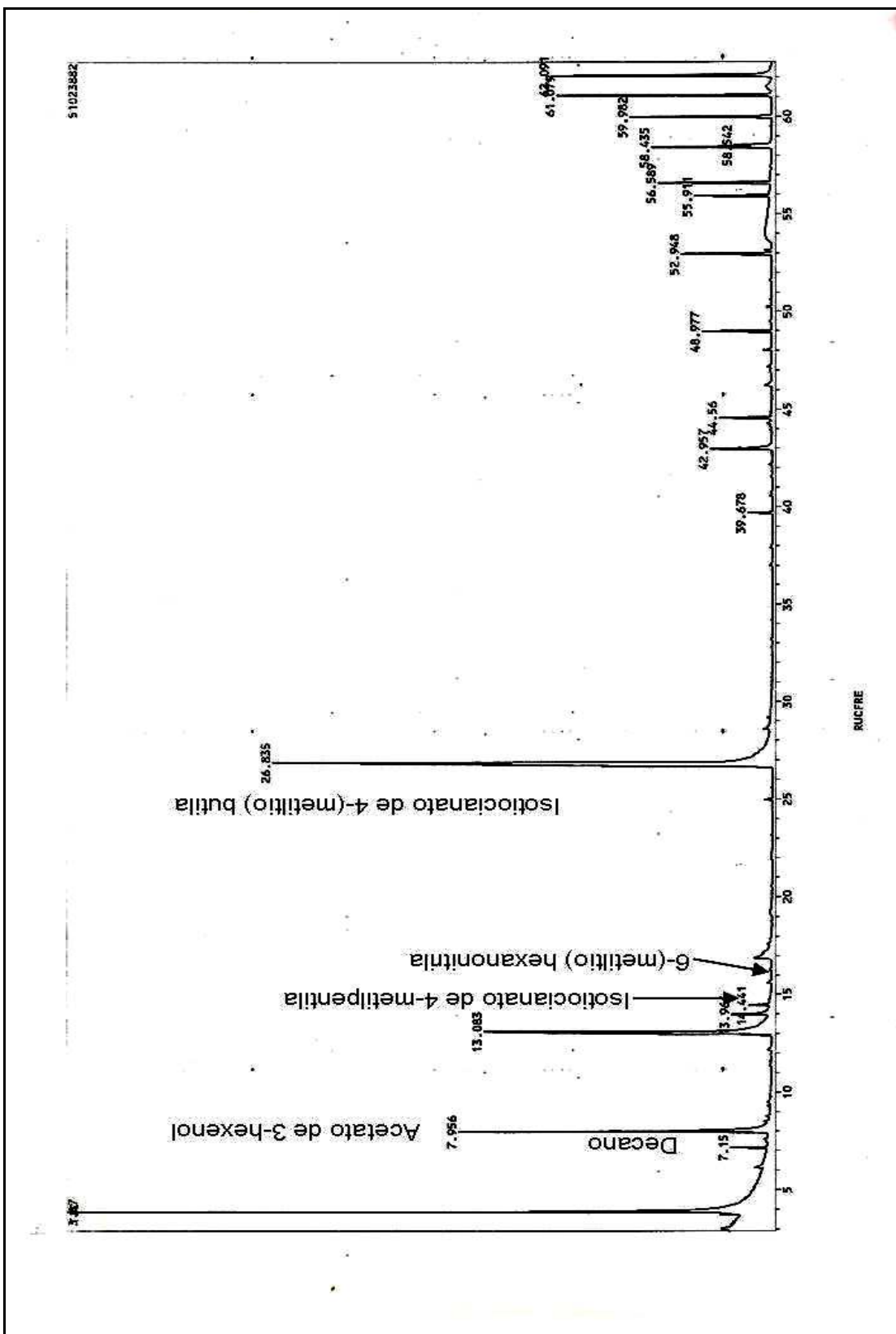


Figura 64: Cromatograma obtido por CG/EM das folhas de rúcula não refrigeradas provenientes do Hortifruti adquiridas em março (RFHV).

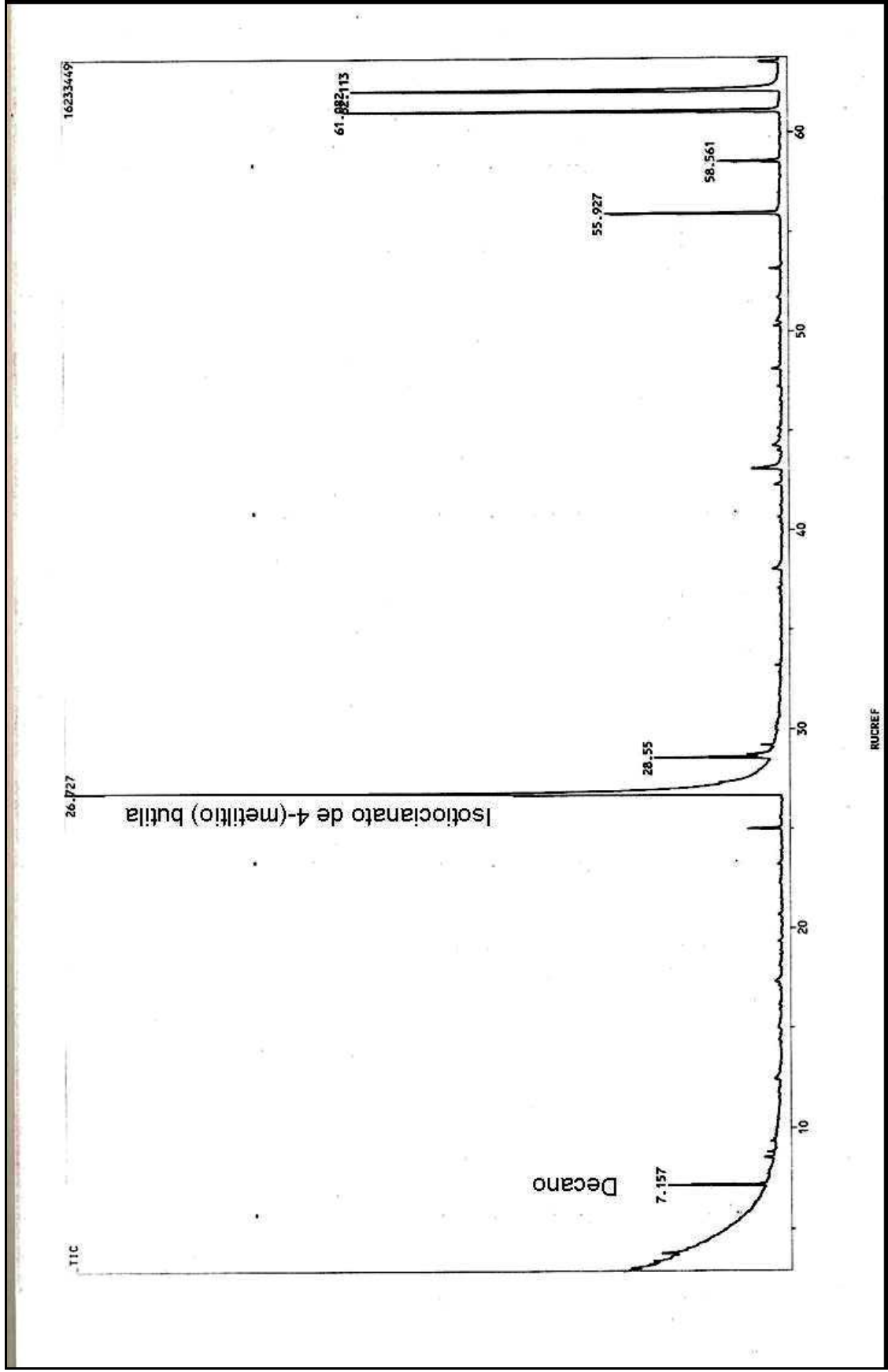


Figura 65: Cromatograma obtido por CG/EM das folhas de rúcula refrigeradas provenientes do Hortifruti adquiridas em março (RRHV).

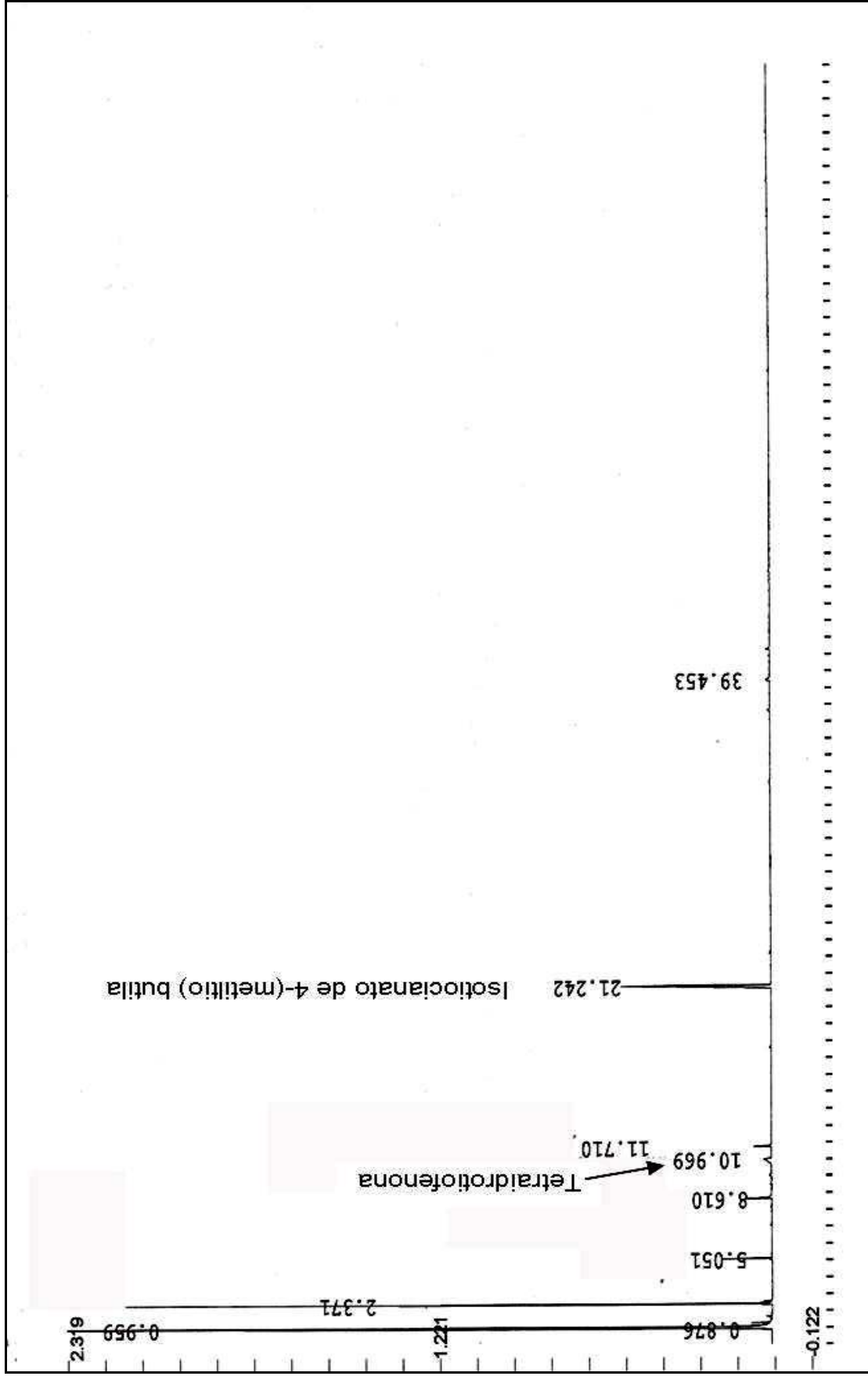


Figura 66: Cromatograma obtido por CG-DIC das folhas de rúcula não refrigeradas provenientes do Hortifruti adquiridas em julho (RFHI).

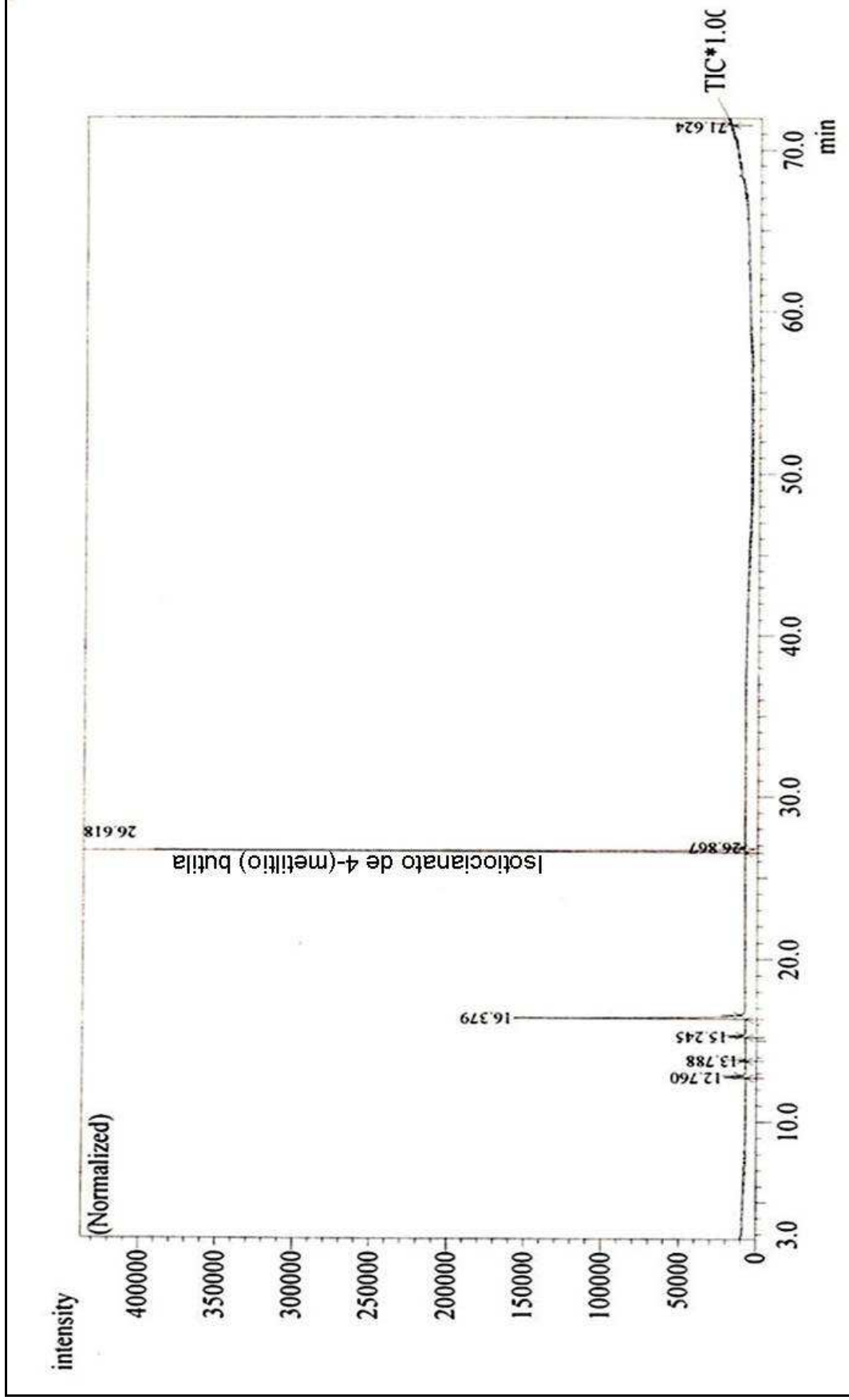


Figura 67: Cromatograma obtido por CG/EM das folhas de rúcula não refrigeradas provenientes do Hortifruti adquiridas em julho (RFHD).

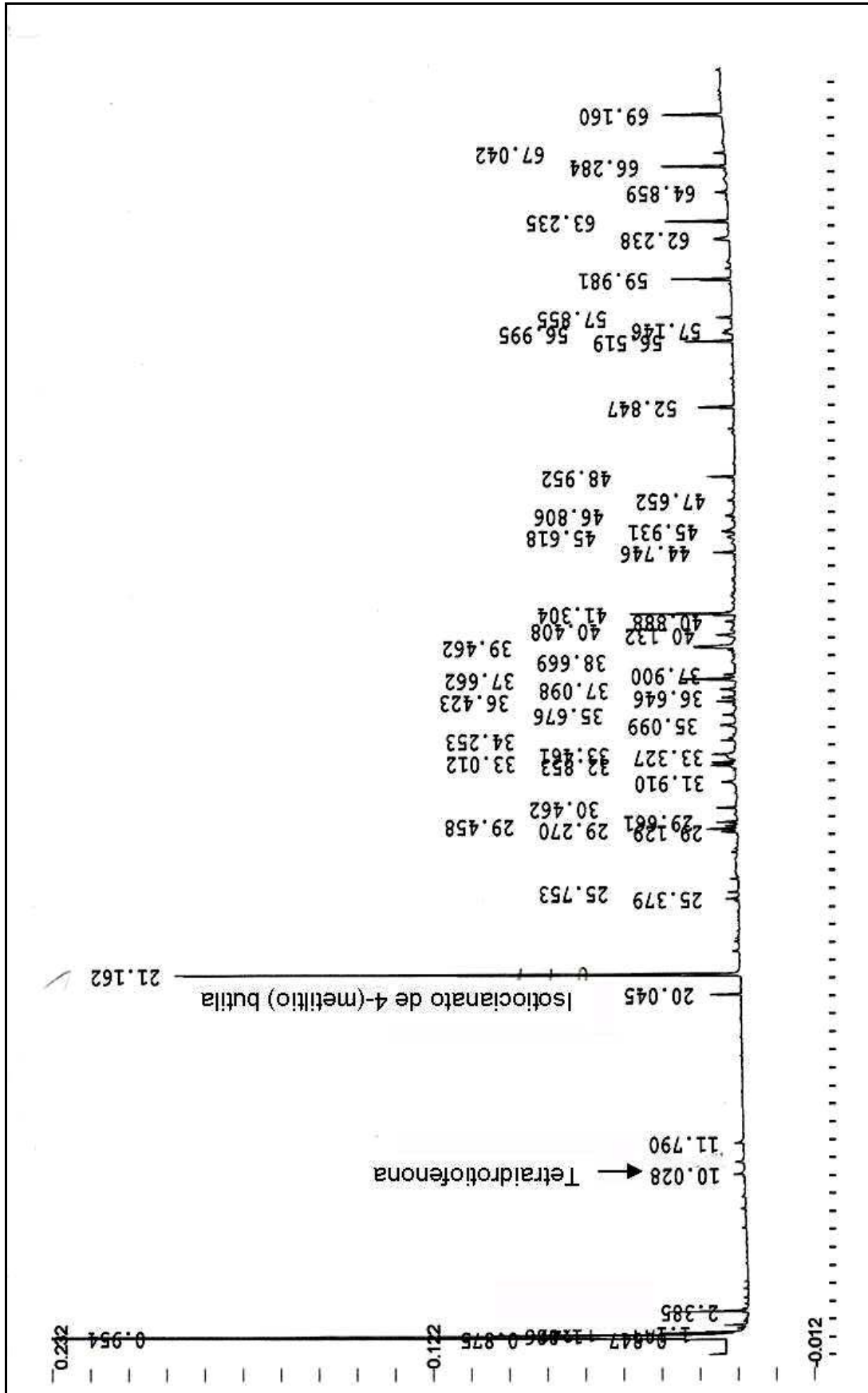


Figura 68: Cromatograma obtido por CG-DIC das folhas de rúcula refrigeradas provenientes do Hortifruti adquiridas em julho (RRHI).

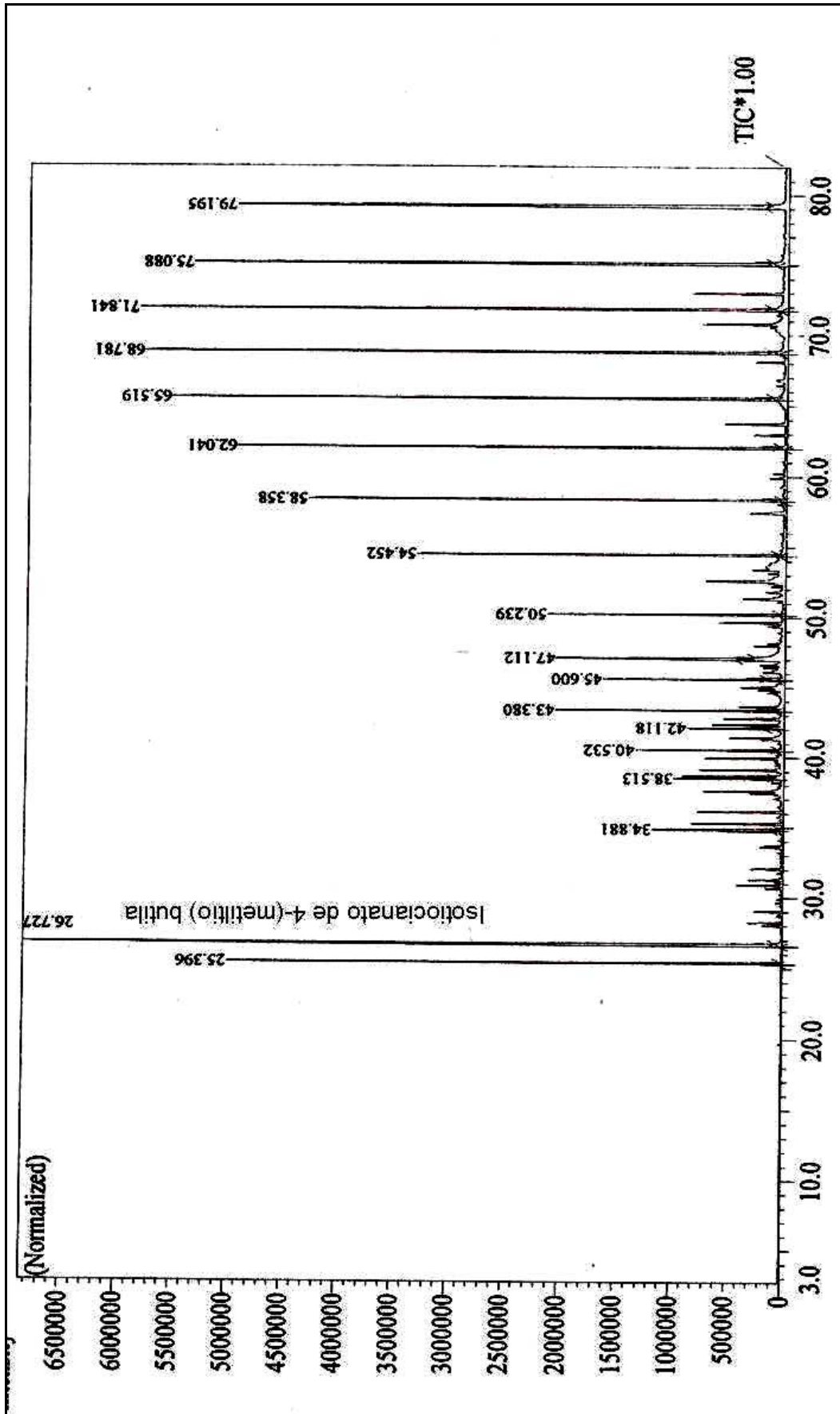


Figura 69: Cromatograma obtido por CG/EM das folhas de rúcula refrigeradas provenientes do Hortifruti adquiridas em julho (RRHI).

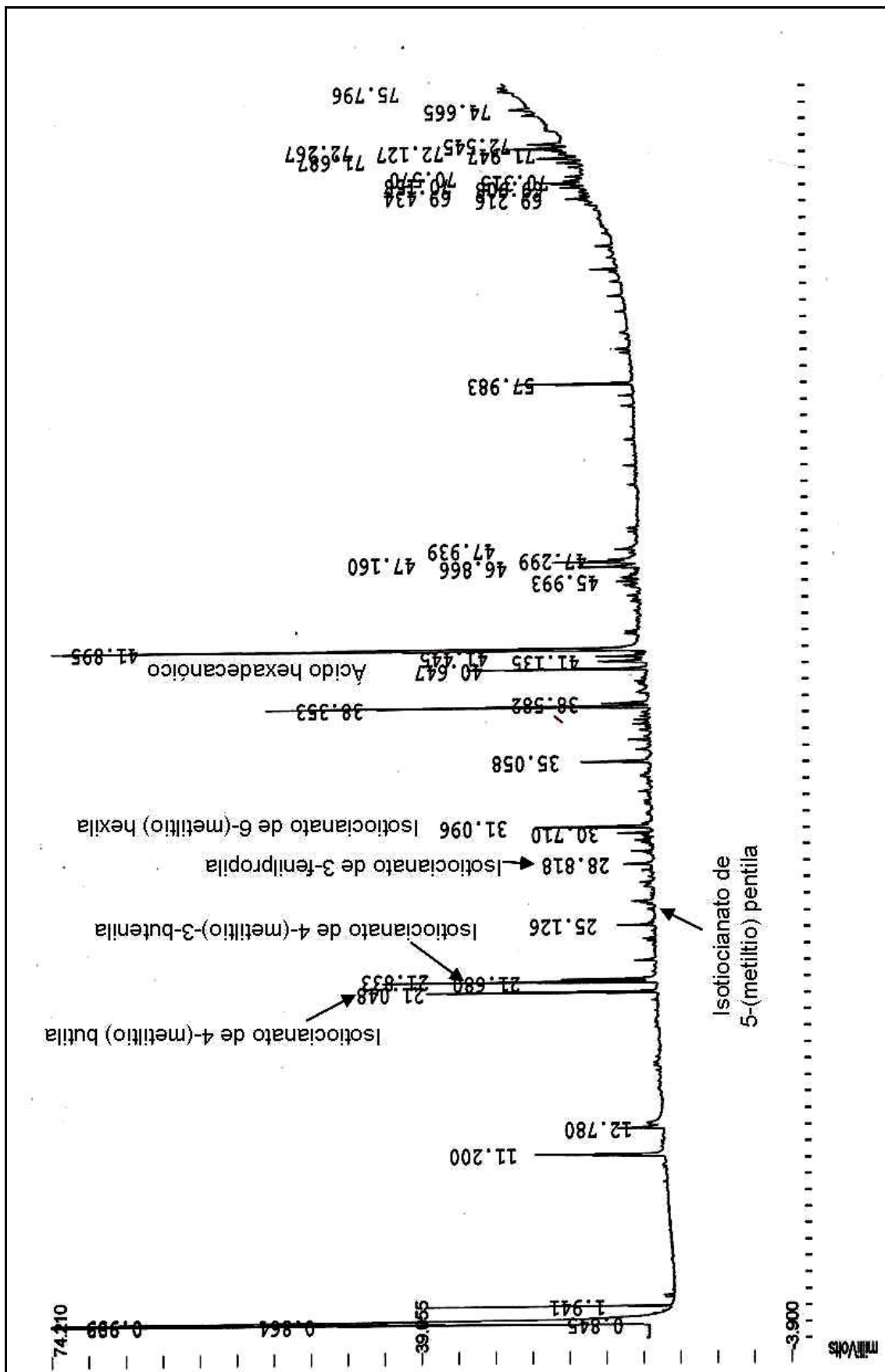


Figura 70: Cromatograma obtido por CG-DIC do rabanete com casca proveniente do Hortifruti adquirido em fevereiro (RCHV).

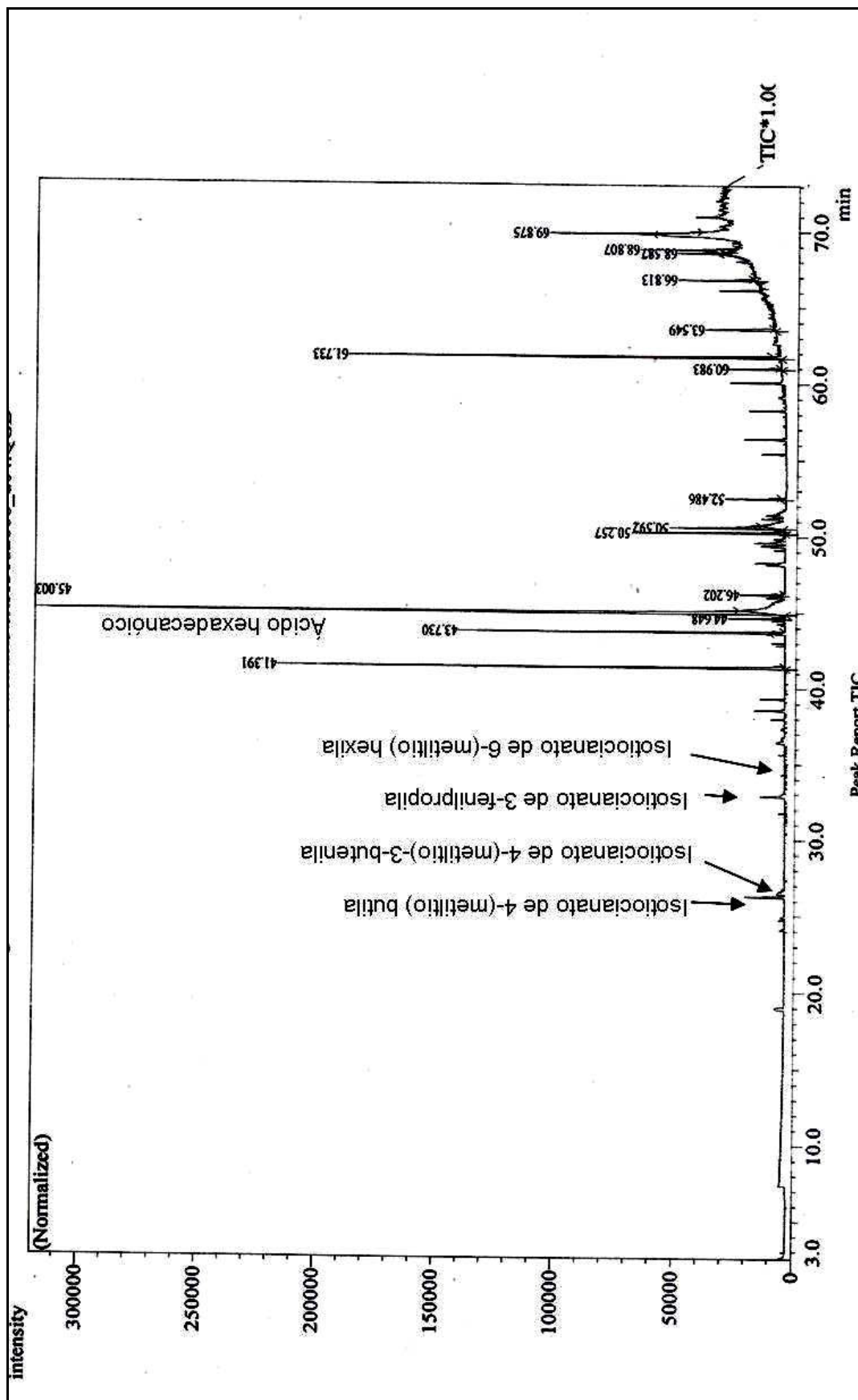


Figura 71: Cromatograma obtido por CG/EM do rabanete com casca proveniente do Hortifruti adquirido em fevereiro (RCHV).

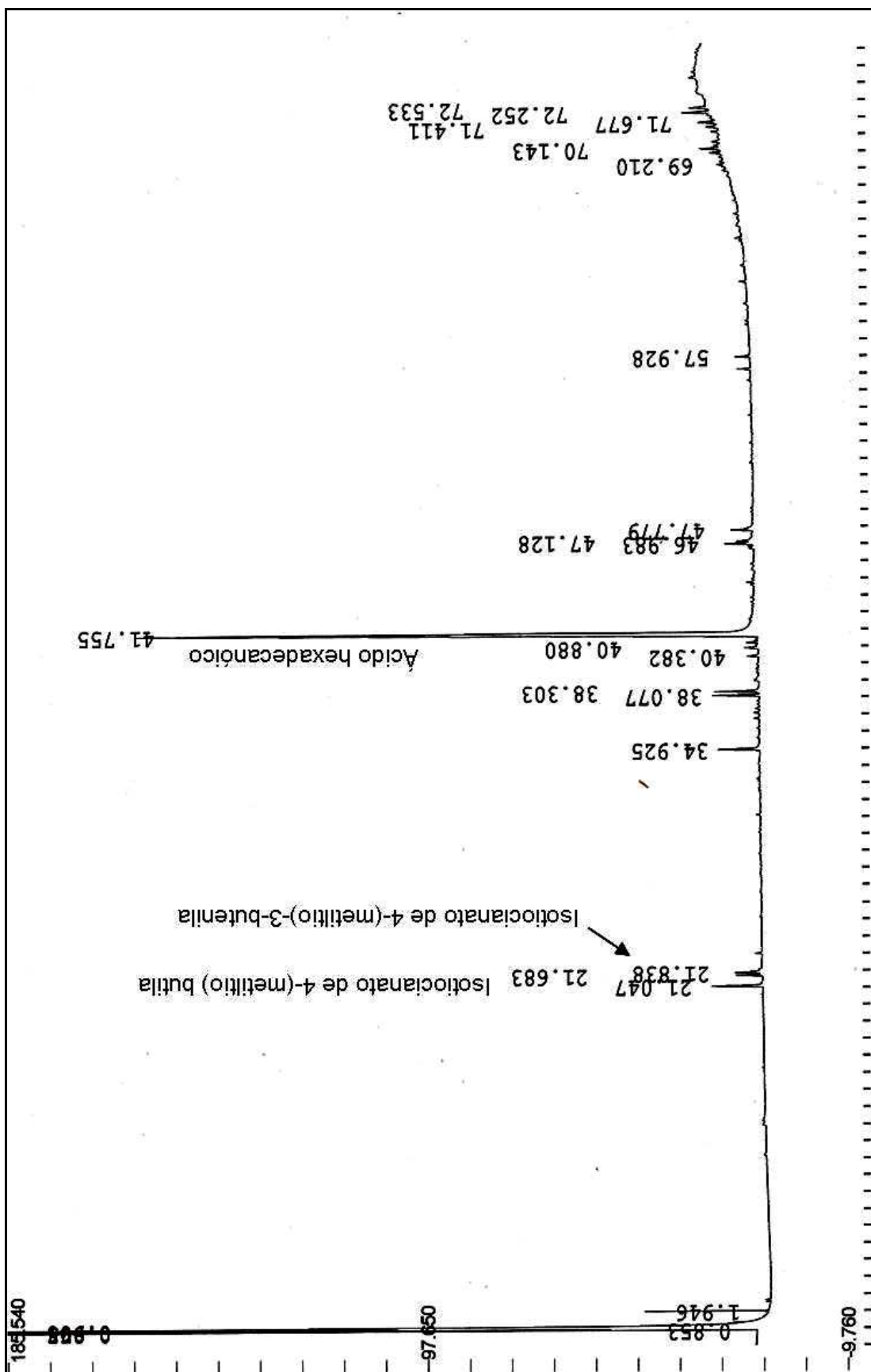


Figura 72: Cromatograma obtido por CG-DIC do rabanete sem casca proveniente do Hortifruti adquirido em fevereiro (RSHV).

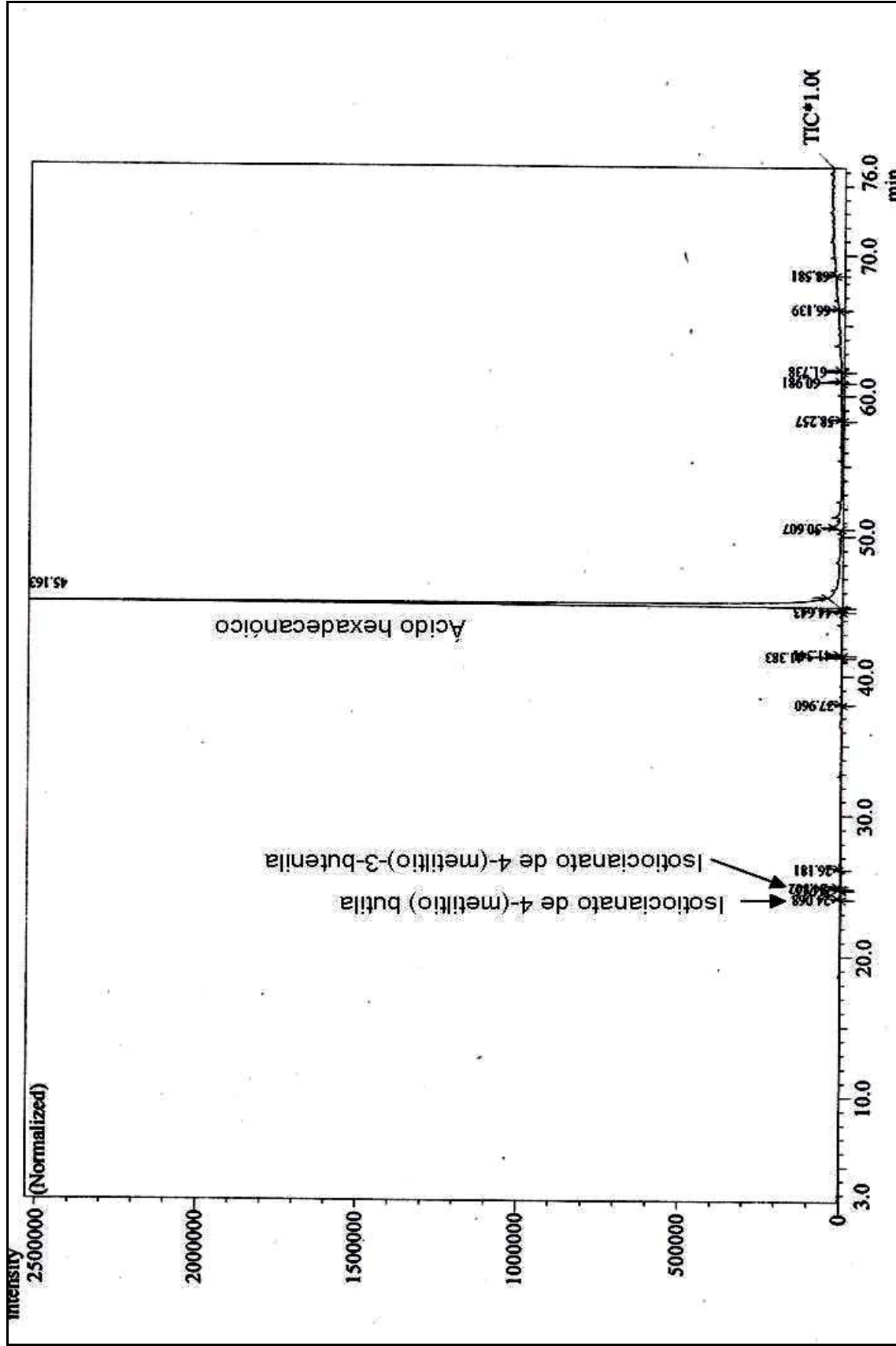


Figura 73: Cromatograma obtido por CG/EM do rabanete sem casca proveniente do Hortifruti adquirido em fevereiro (RSHV).

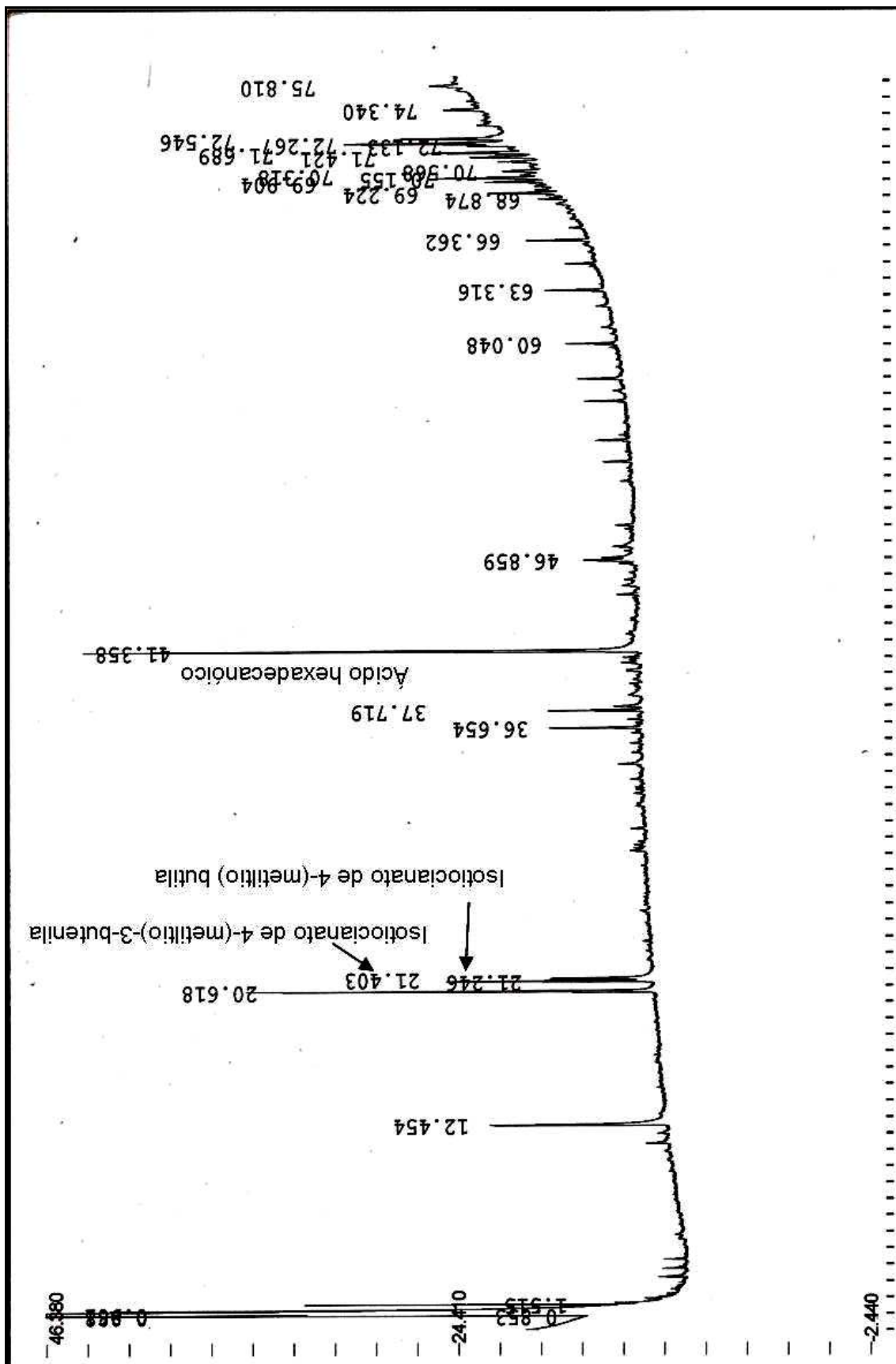


Figura 74: Cromatograma obtido por CG-DIC do rabanete com casca proveniente do Hortifruti adquirido em julho (RCHI).

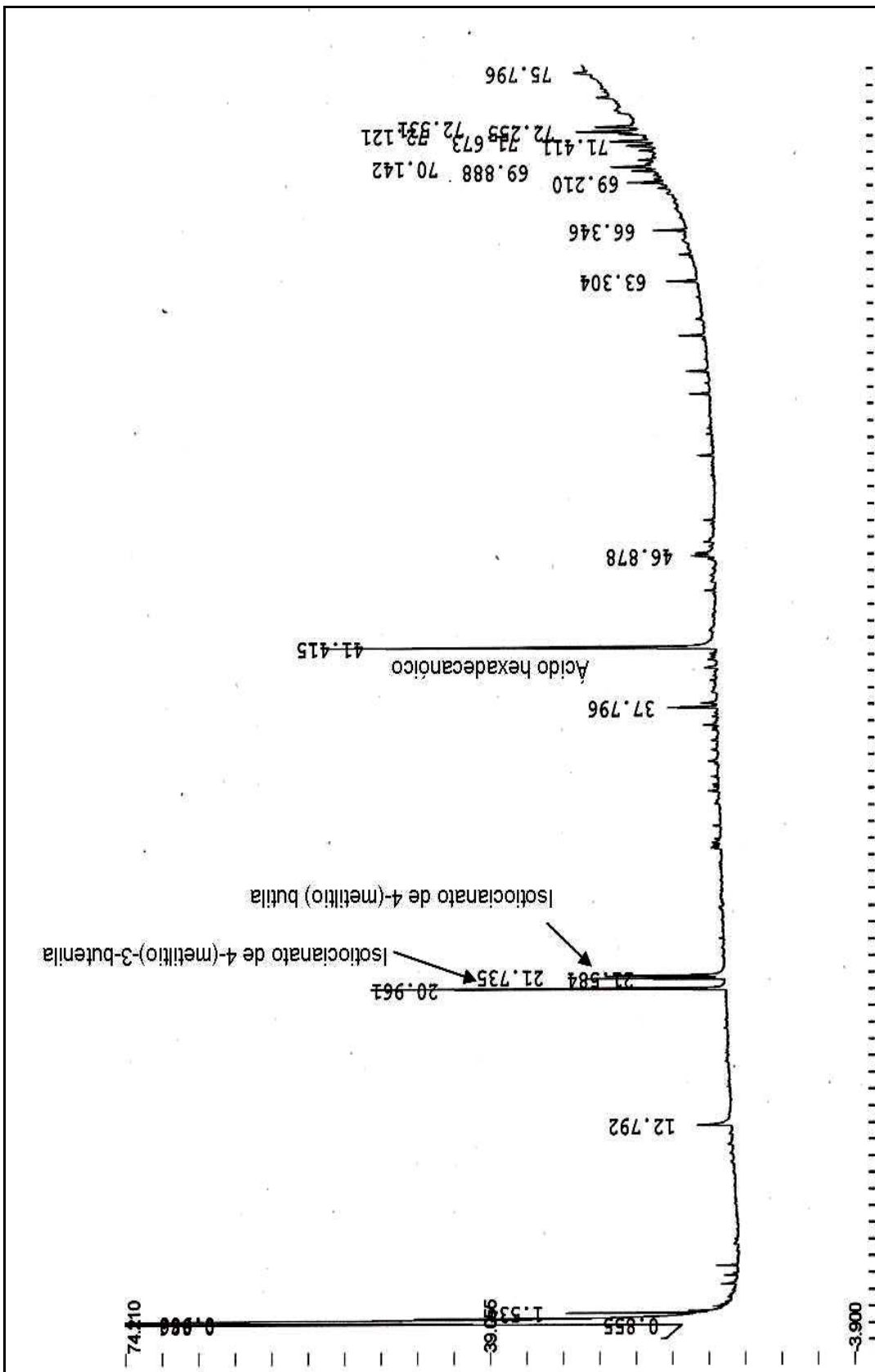


Figura 75: Cromatograma obtido por CG-DIC do rabanete sem casca proveniente do Hortifruti adquirido em julho (RSHI).

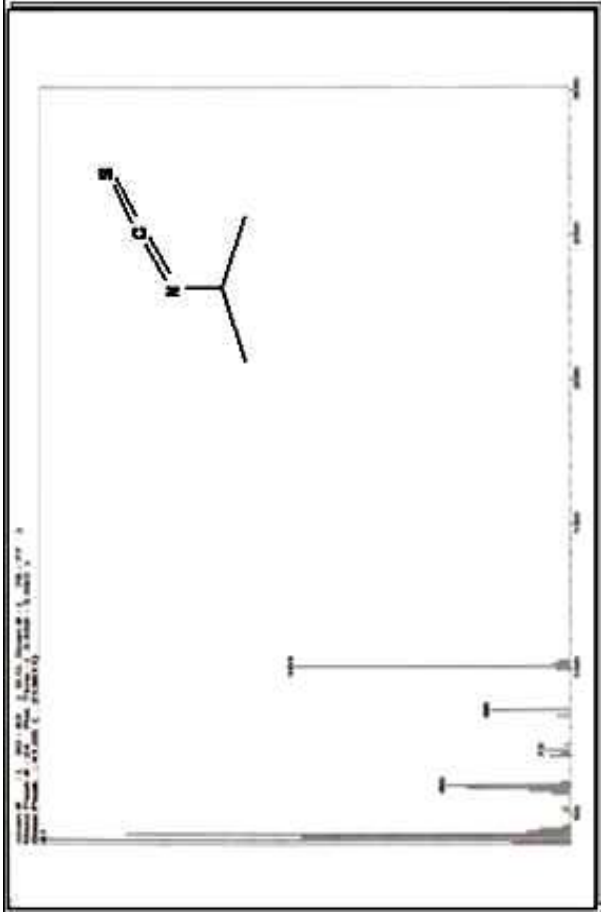


Figura 76: Espectro de massas por impacto de elétrons a 70 eV do isotiocianato de isopropila com TR 3,57 min. da fração NCFV.

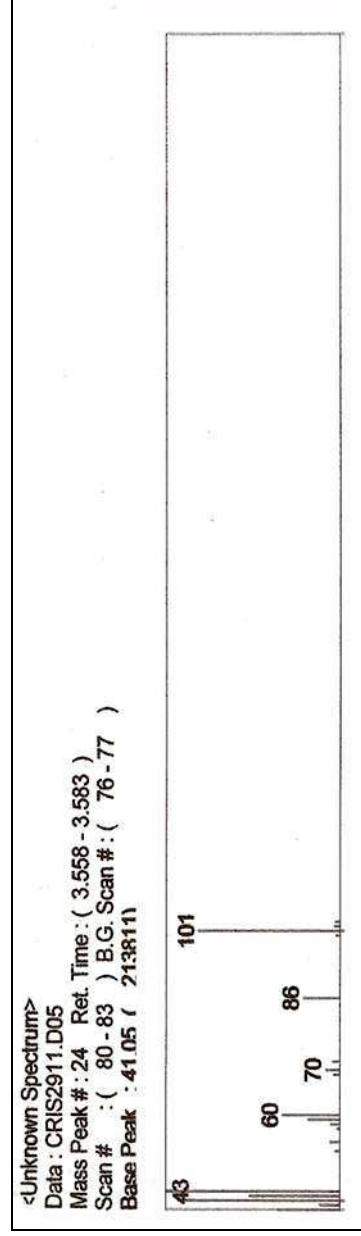


Figura 77: Espectro de massas do isotiocianato de isopropila (1) NIST107.LIB (2) NIST21.LIB

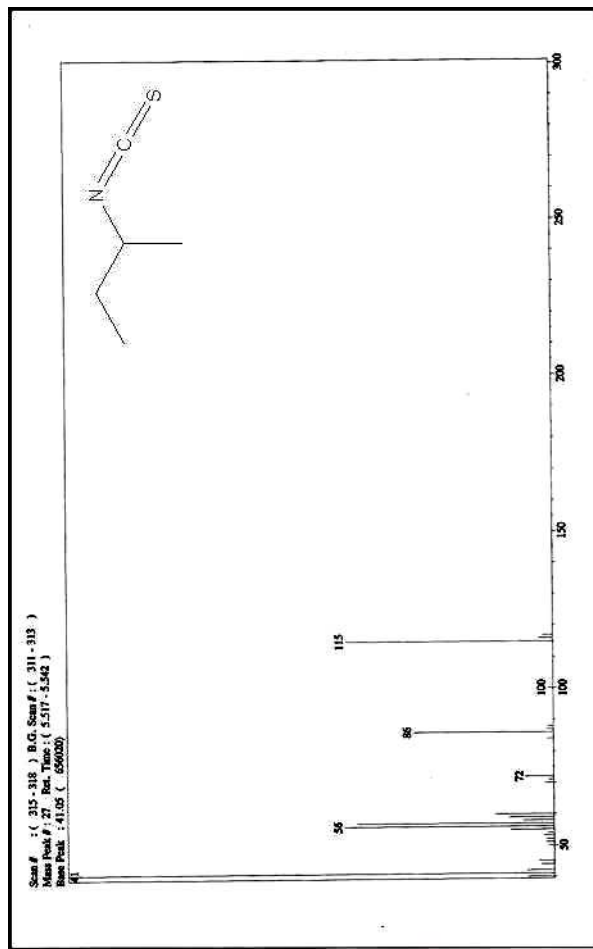


Figura 78: Espectro de massas por impacto de elétrons a 70 eV do isotiocianato de *sec*-butila com TR 5,53 min. da fração NSFV.

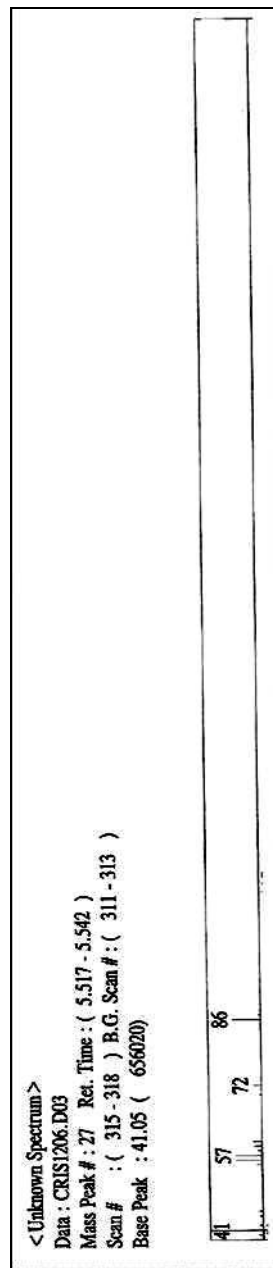


Figura 79: Espectro de massas do isotiocianato de *sec*-butila (1) NIST107.LIB (2) NIST21.LIB

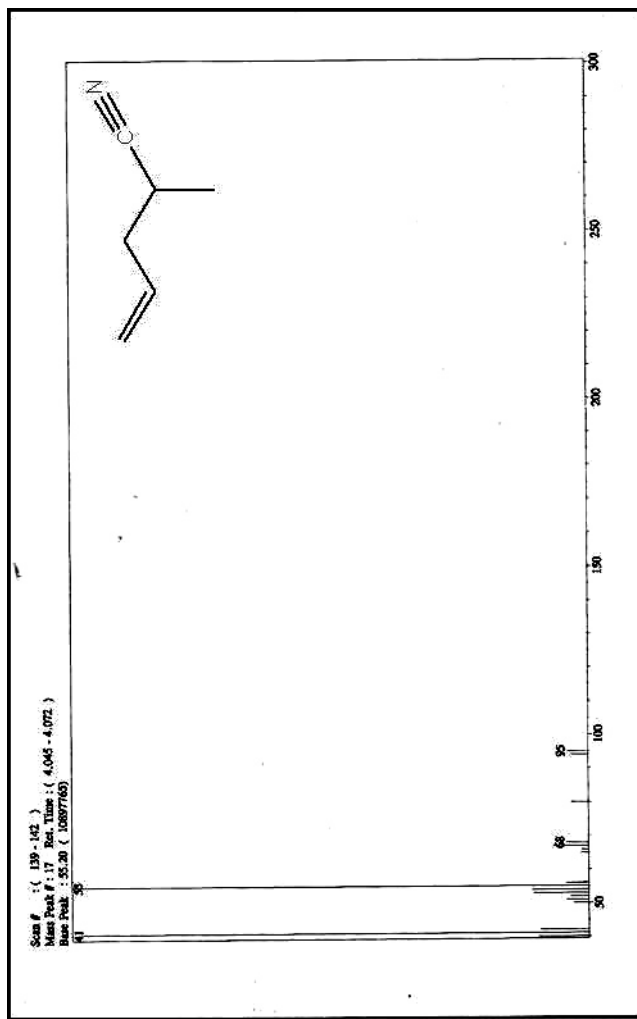


Figura 80: Espectro de massas por impacto de elétrons a 70 eV da 2-metil-5-hexenonitrila com TR 4,06 min. da fração NSFV.

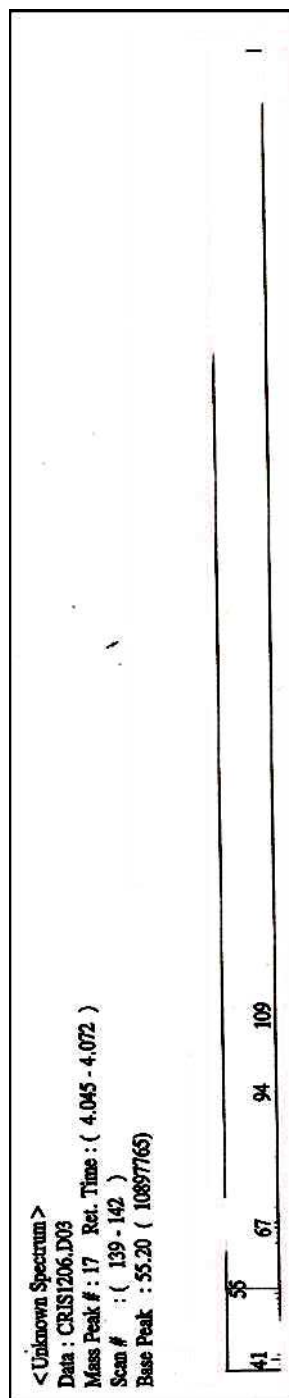


Figura 81 : Espectro de massas da 2-metil-5-hexenonitrila (1) NIST107.LIB (2) NIST21.LIB

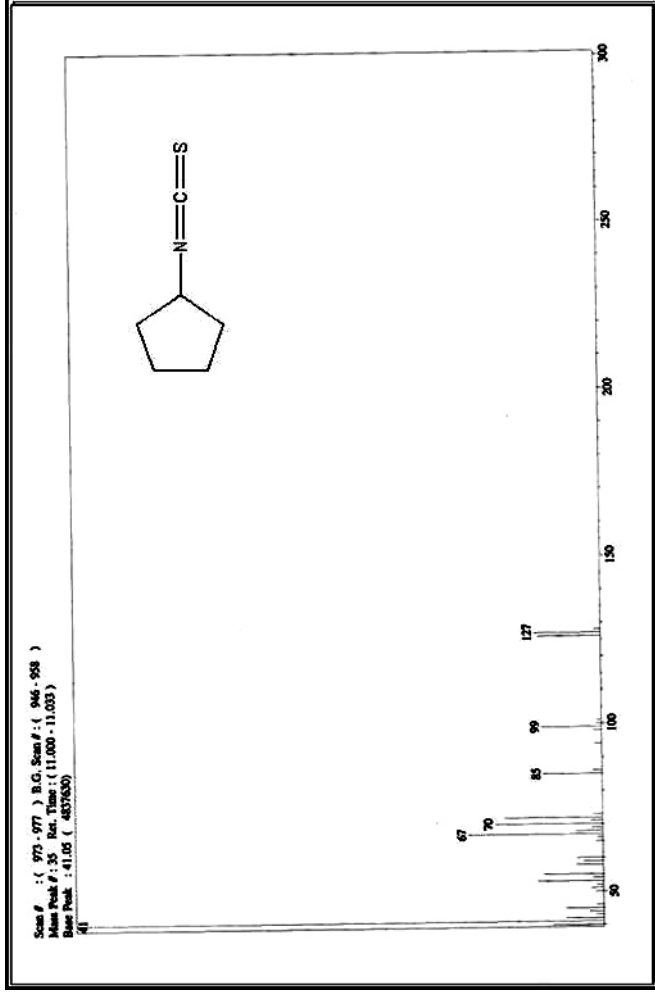


Figura 82: Espectro de massas por impacto de elétrons a 70 eV do isotiocianato de ciclopentila com TR 11,02 min. da fração NSFV.

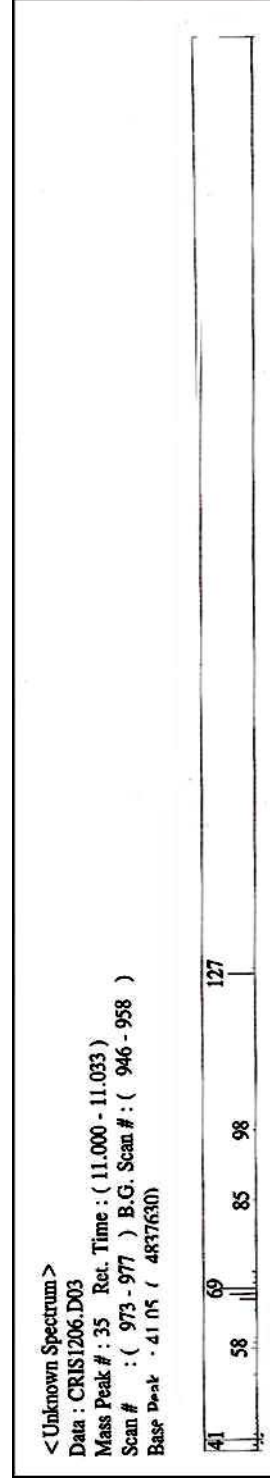


Figura 83: Espectro de massas do isotiocianato de ciclopentila (1) NIST107.LIB (2) NIST21.LIB

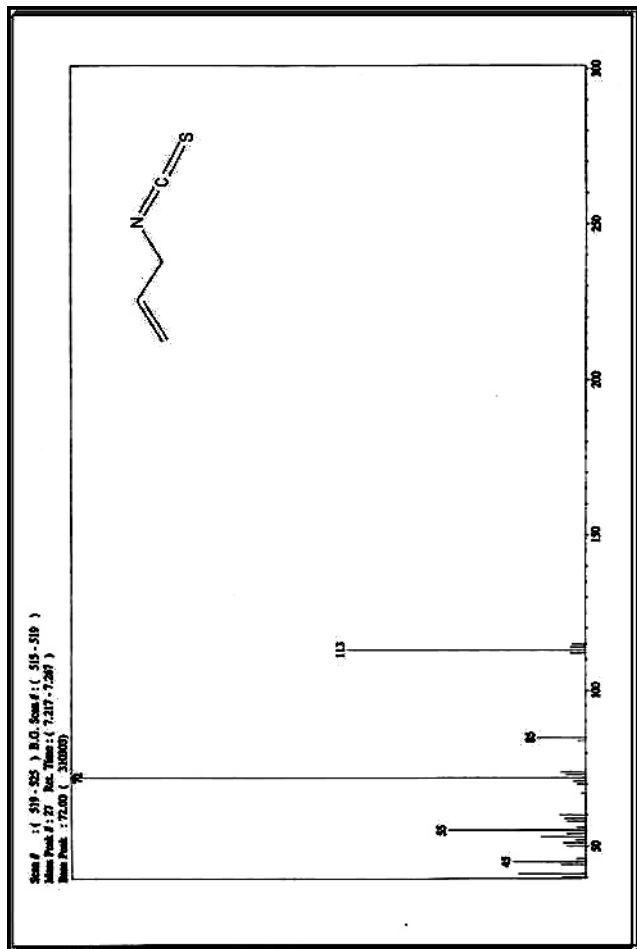


Figura 84: Espectro de massas por impacto de elétrons a 70 eV do isotiocianato de 3-butenila com TR 7,24 min. da fração NSFV.

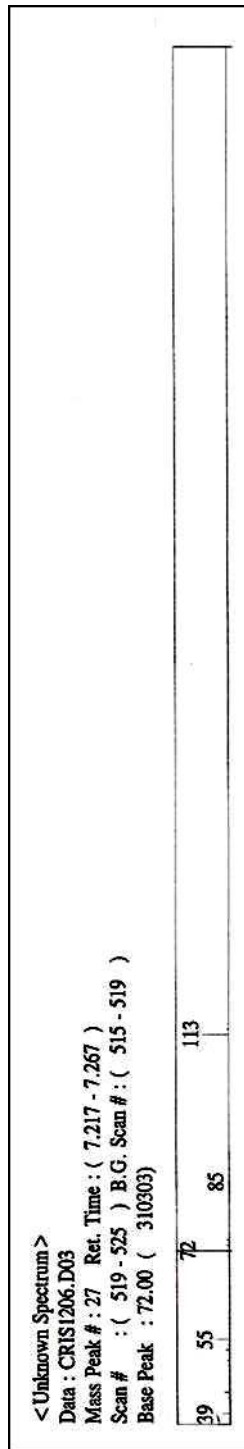


Figura 85: Espectro de massas do isotiocianato de 3-butenila (1) NIST107.LIB (2) NIST21.LIB

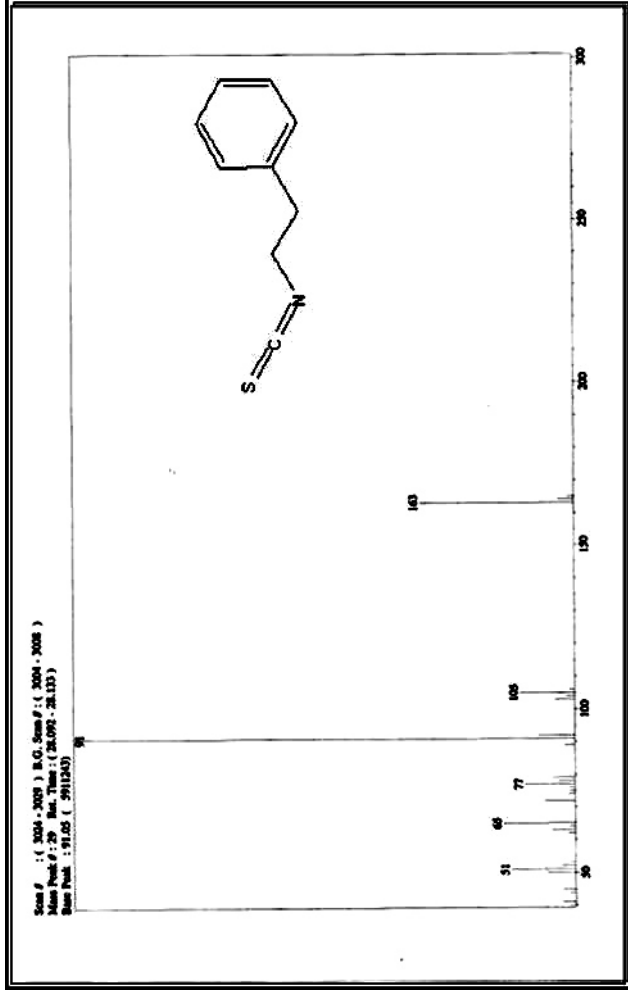


Figura 86: Espectro de massas por impacto de elétrons a 70 eV do isotiocianato de 2-feniletíla com TR 28,11 min. da fração NSFV.

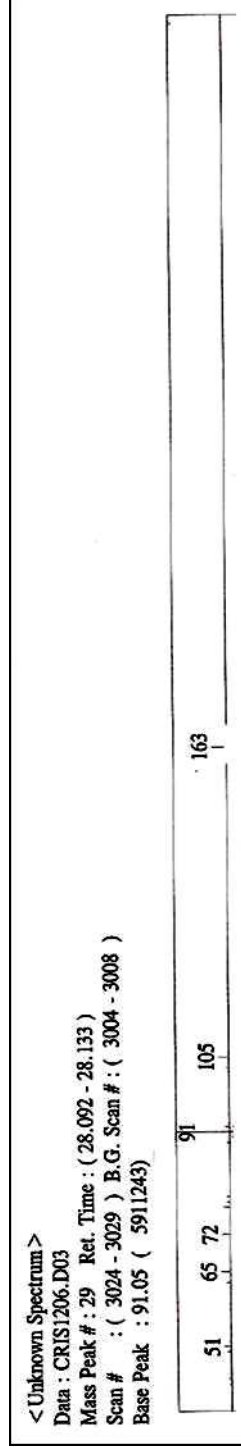


Figura 87: Espectro de massas do isotiocianato de 2-feniletíla (1) NIST107.LIB (2) NIST21.LIB

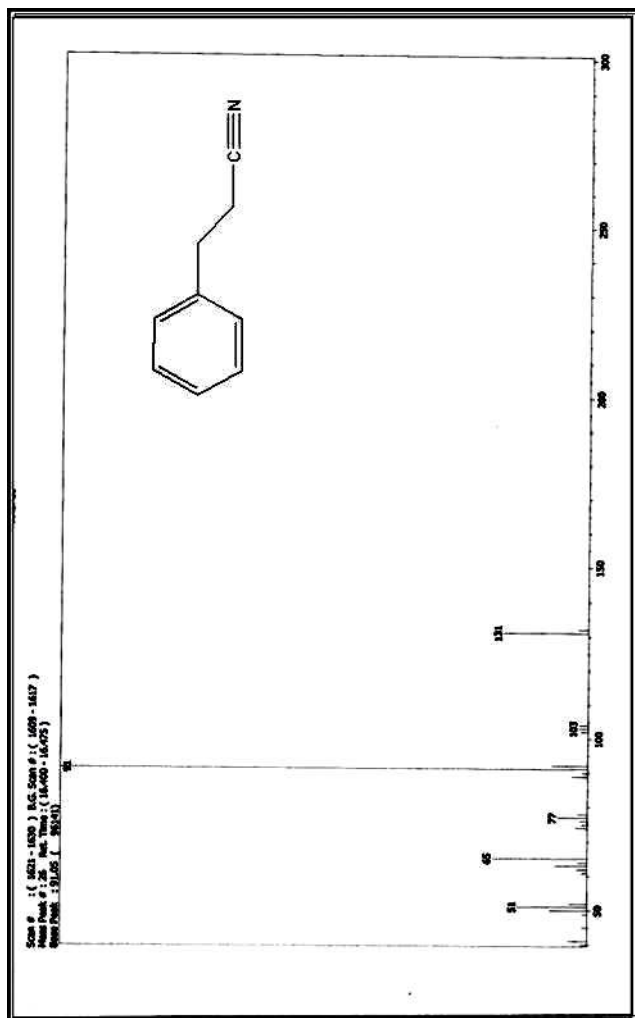


Figura 88: Espectro de massas por impacto de elétrons a 70 eV do benzopropanitrila com TR 16,43 min. da fração NSF1

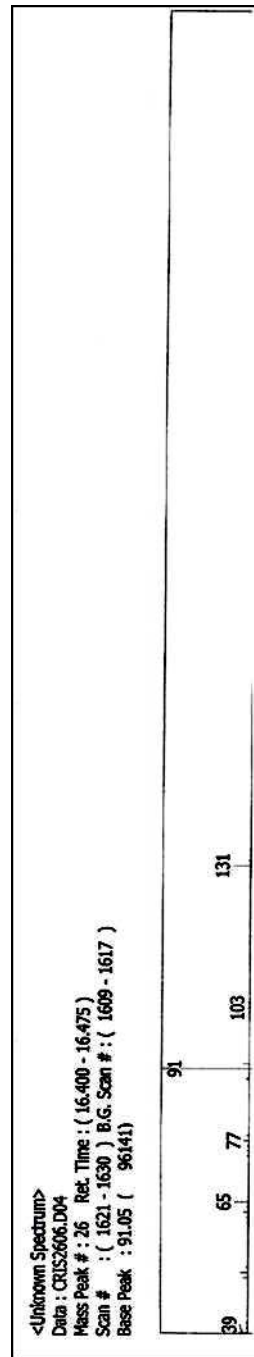


Figura 89: Espectro de massas da benzopropanitrila (1) NIST107.LIB (2) NIST21.LIB

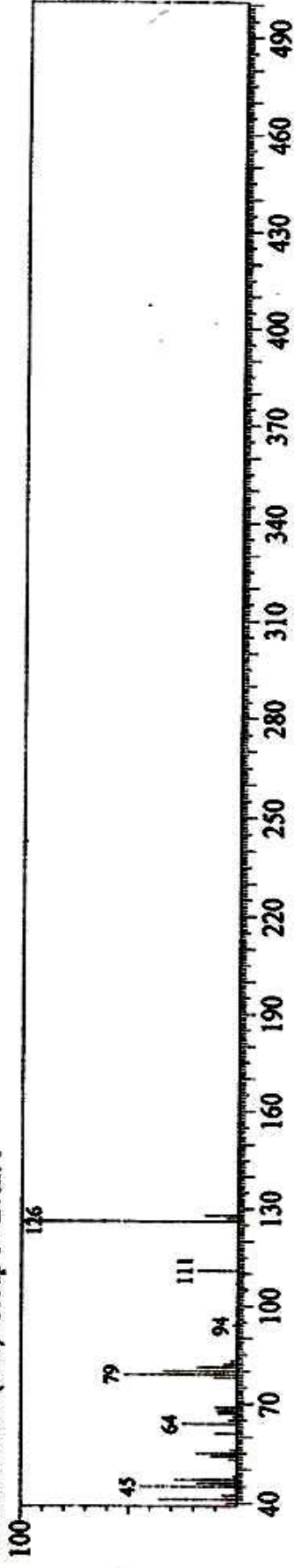
Library Search

<< Target >>

Line#:1 R.Time:6.117(Scan#:435) MassPeaks:30

RawMode:Averaged 6.108-6.133(434-437) BasePeak:126.00(26006)

BG Mode:6.083(431) Group 1 - Event 1



Hit#:1 Entry:6138 Library:NIST05.LIB

SI:84 Formula:C2H6S3 CAS:3658-80-8 MolWeight:126 RetIndex:972

CompName:Dimethyl trisulfide \$S\$ Trisulfide, dimethyl \$S\$ Methyl trisulfide \$S\$ CH3SSSCH3 \$S\$ 2,3,4-Tritiapentane \$S\$ 1,3-Dimethyltrisulfane # \$S\$

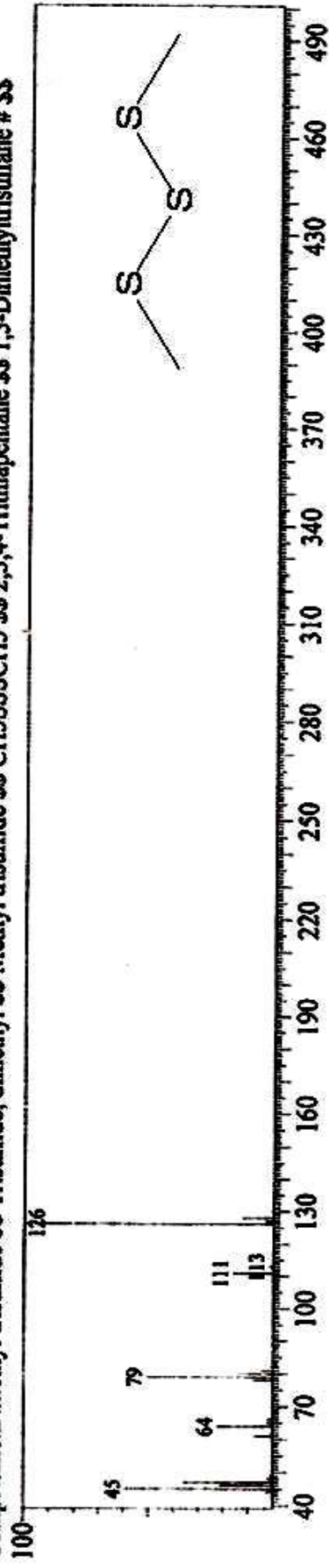


Figura 90: Espectro de massas por impacto de elétrons a 70 eV e biblioteca de espectros (NIST05.LIB) do trissulfeto de dimetila com

TR 6,12 min. da fração NSSV.

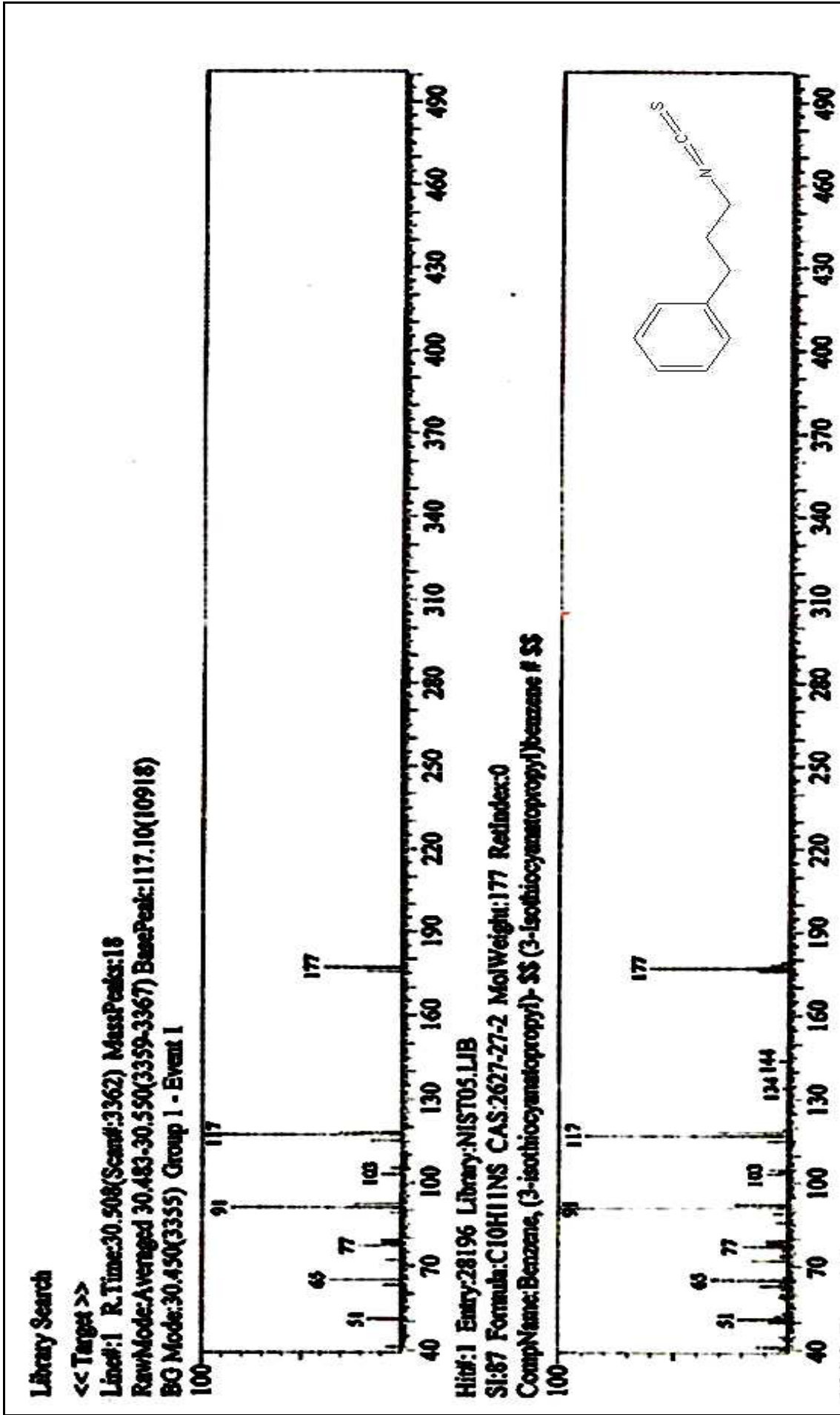


Figura 91: Espectro de massas por impacto de elétrons a 70 eV e biblioteca de espectros (NIST05.LIB) do isotiocianato de 3-fenilpropila com TR 30,51 min. da fração NCSI.

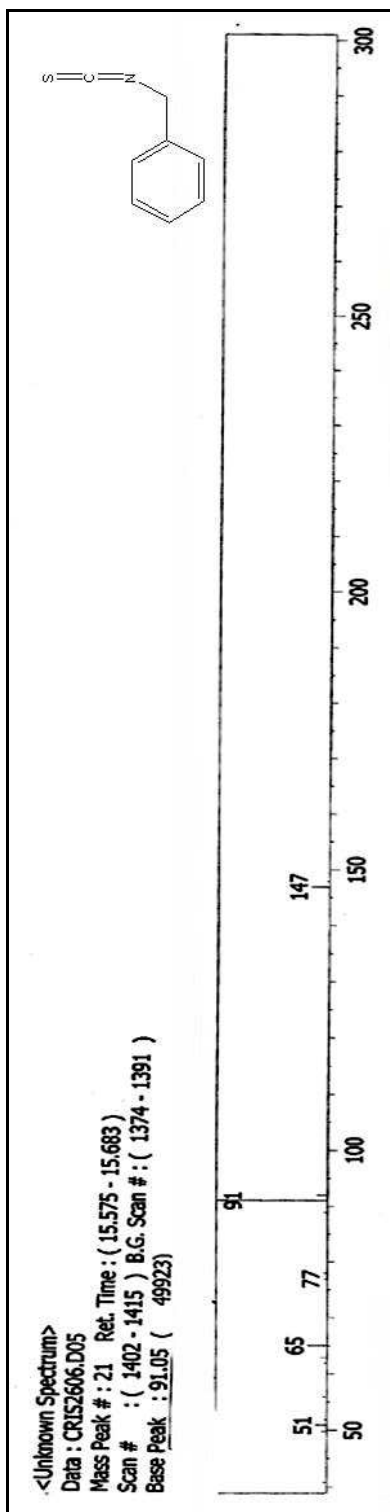


Figura 92: Espectro de massas por impacto de elétrons a 70 eV do isotiocianato de benzila com TR 15,63 min. da fração NCSI.

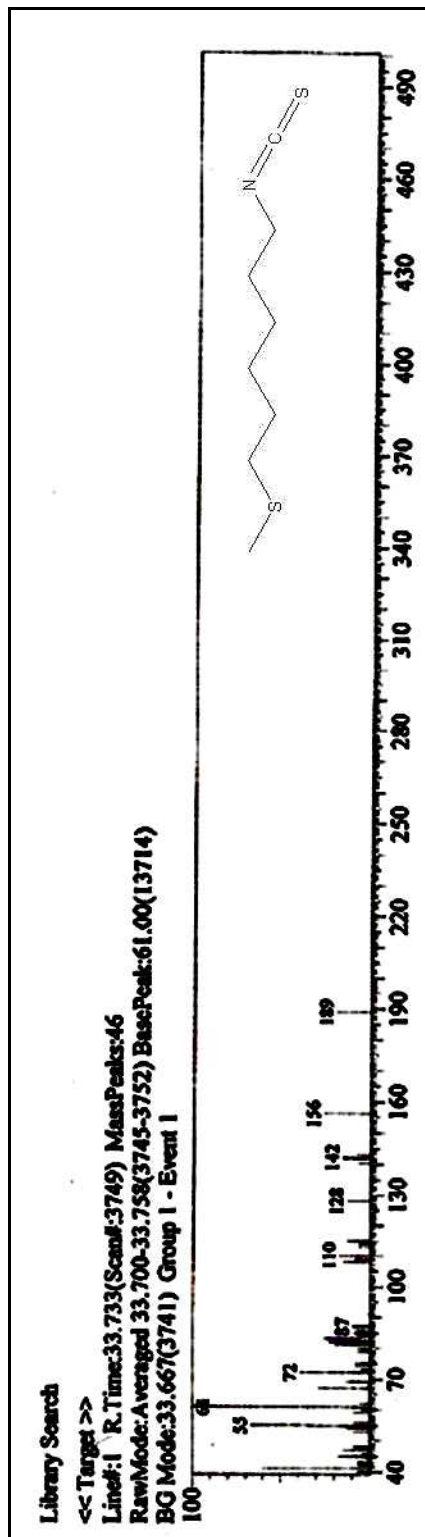


Figura 93: Espectro de massas por impacto de elétrons a 70 eV do isotiocianato de 6-(metiltio) hexila com TR 33,73 min. da fração NCSI.

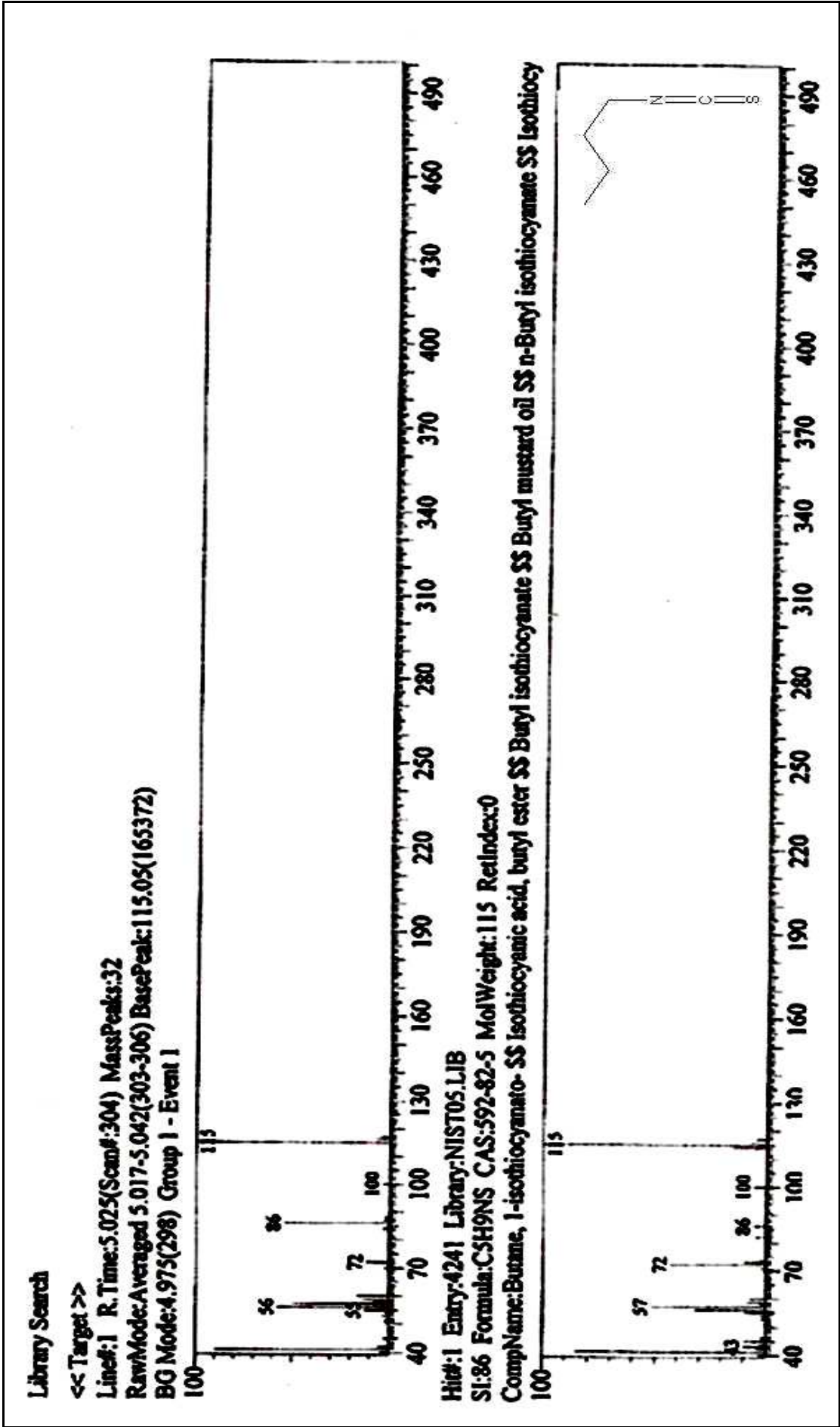


Figura 94: Espectro de massas por impacto de elétrons a 70 eV e biblioteca de espectros do isotiocianato de butila com TR 5,02 min. da fração NSSV.

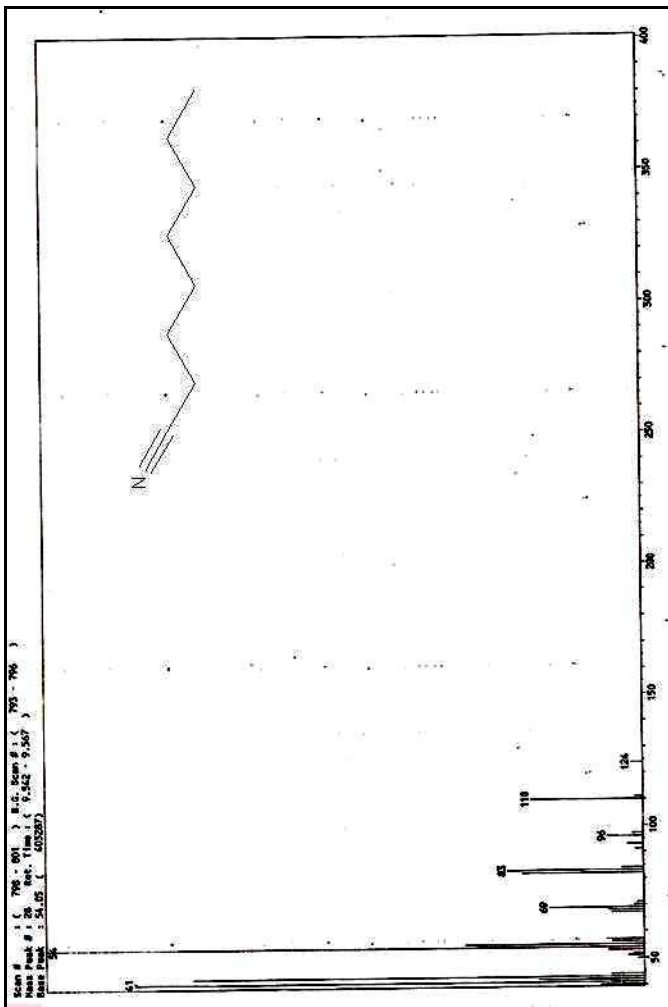


Figura 95: Espectro de massas por impacto de elétrons a 70 eV do octanenitrila com TR 9,55 min. da fração NCHV.

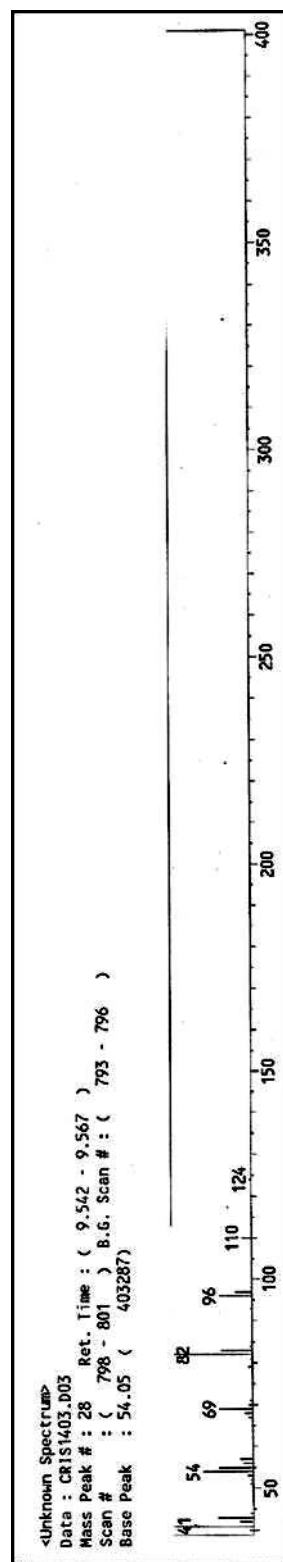


Figura 96: Espectro de massas da octanenitrila (1) NIST107.LIB (2) NIST21.LIB

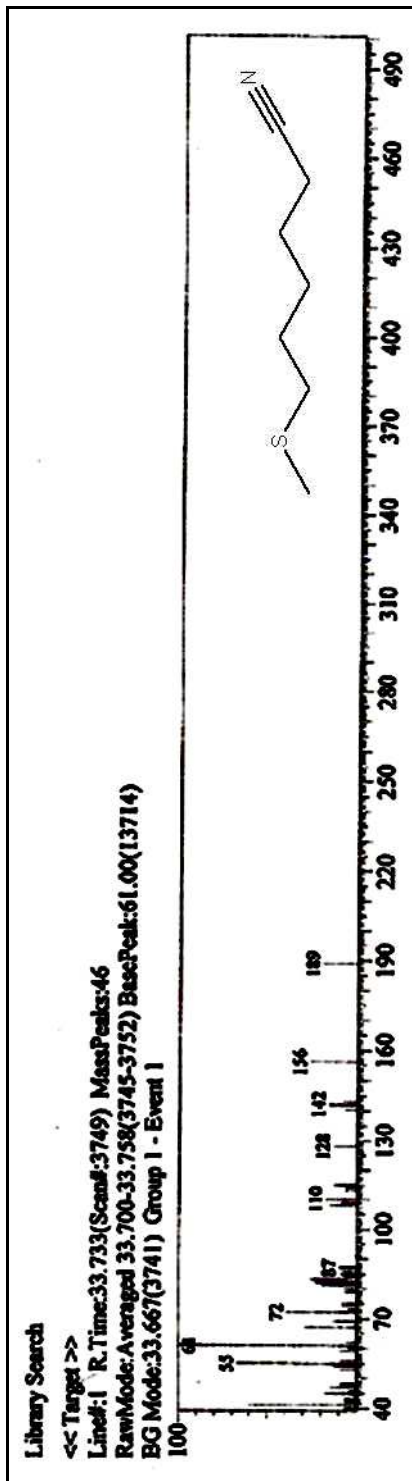


Figura 97: Espectro de massas por impacto de elétrons a 70 eV do 6-(metiltio)-hexanonitrila com TR 21,93 min. da fração NSHV.

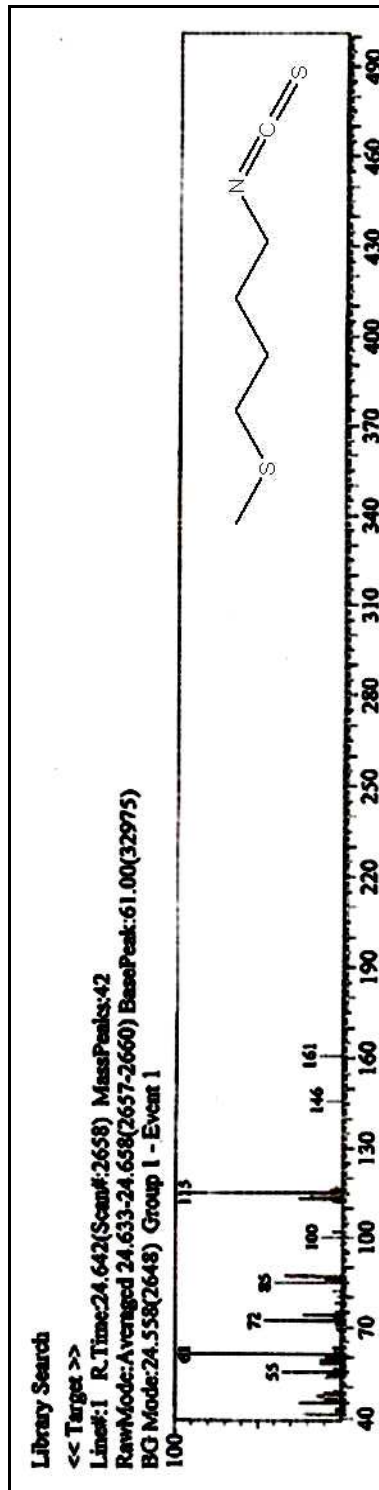


Figura 98: Espectro de massas por impacto de elétrons a 70 eV do isotiocianato de 4-(metiltio)-butila com TR 24,64 min. da fração RFSI.

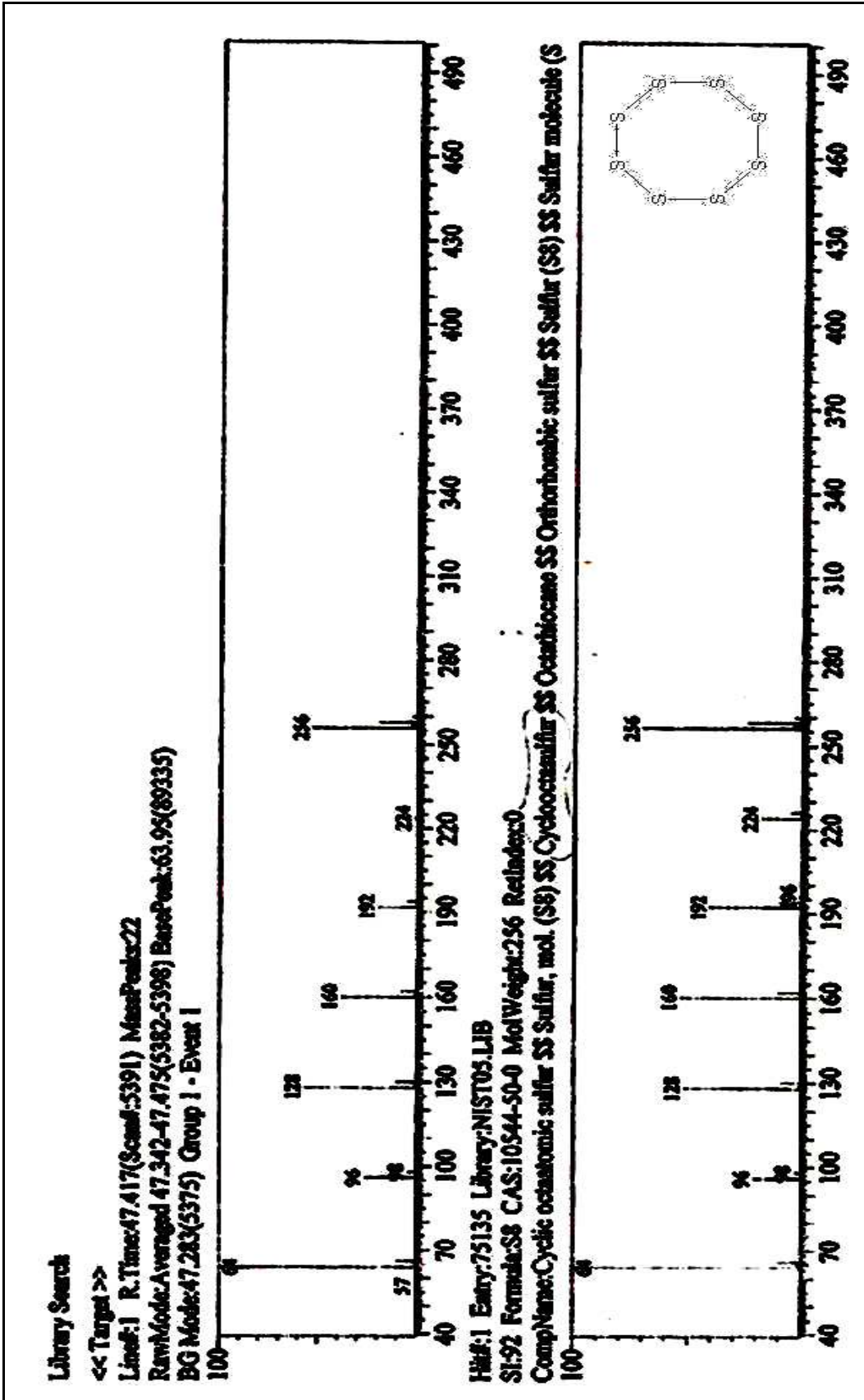


Figura 99: Espectro de massas por impacto de elétrons a 70 eV e biblioteca de espectros (NIST05.LIB) do ciclooctano com TR 47,42 min. da fração

RRSI.

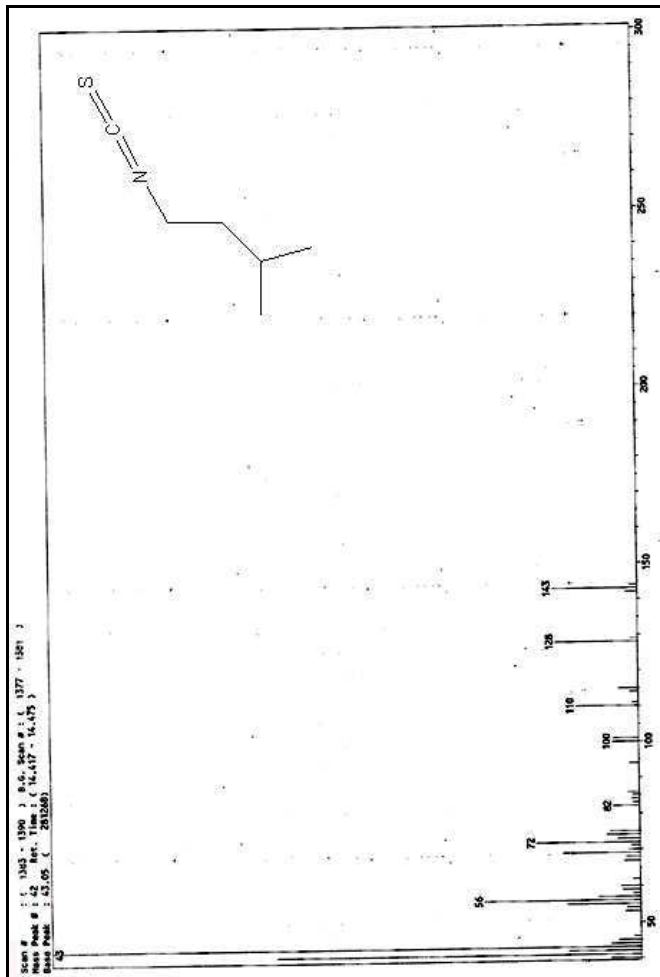


Figura 100: Espectro de massas por impacto de elétrons a 70 eV do isotiocianato de 4-metil pentila com TR 14,44 min. da fração RFHV.

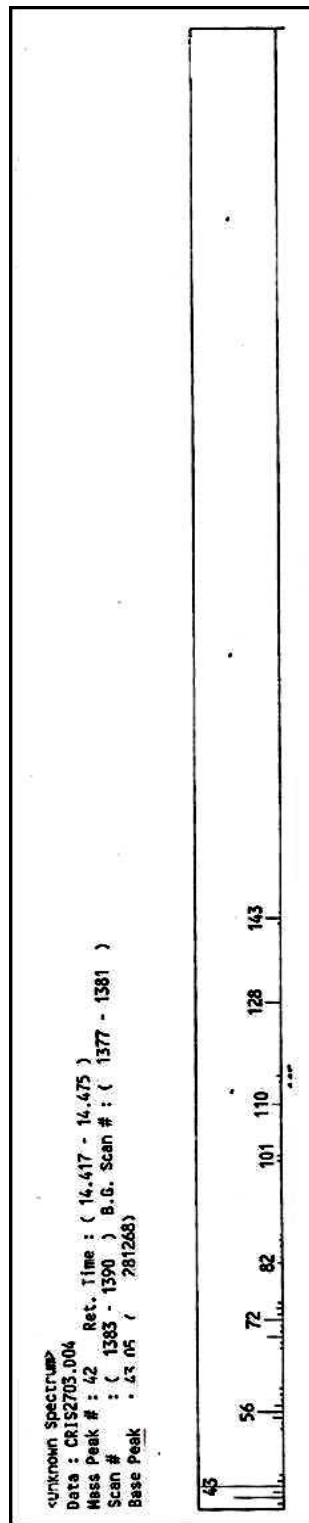


Figura 101: Espectro de massas do isotiocianato de 4-metil pentila (1) NIST107.LIB (2) NIST21.LIB

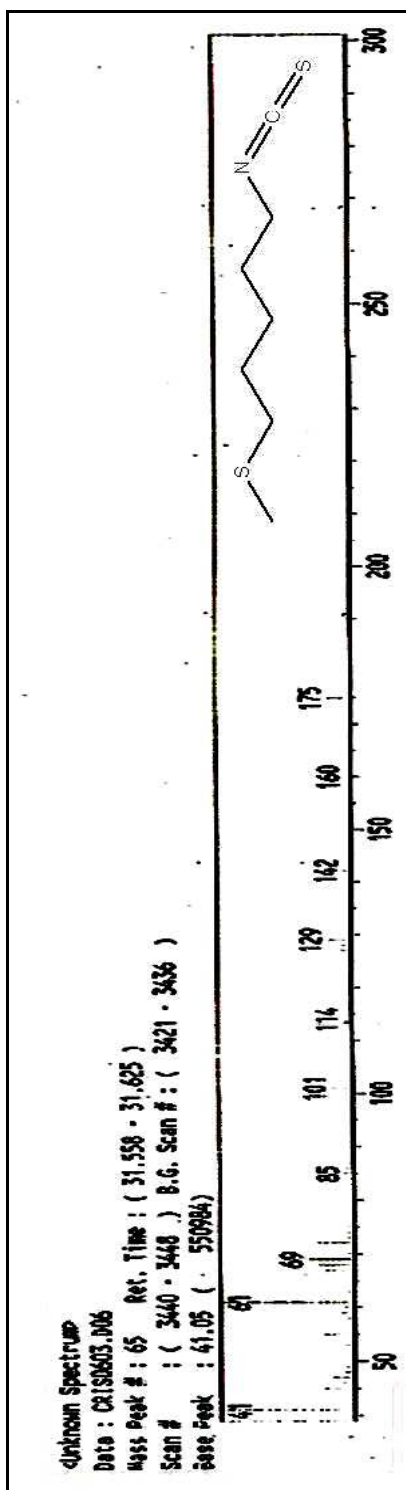


Figura 102: Espectro de massas por impacto de elétrons a 70 eV do isotiocianato de 5-(metilto)-pentila com TR 31,6 min. da fração NSHV.

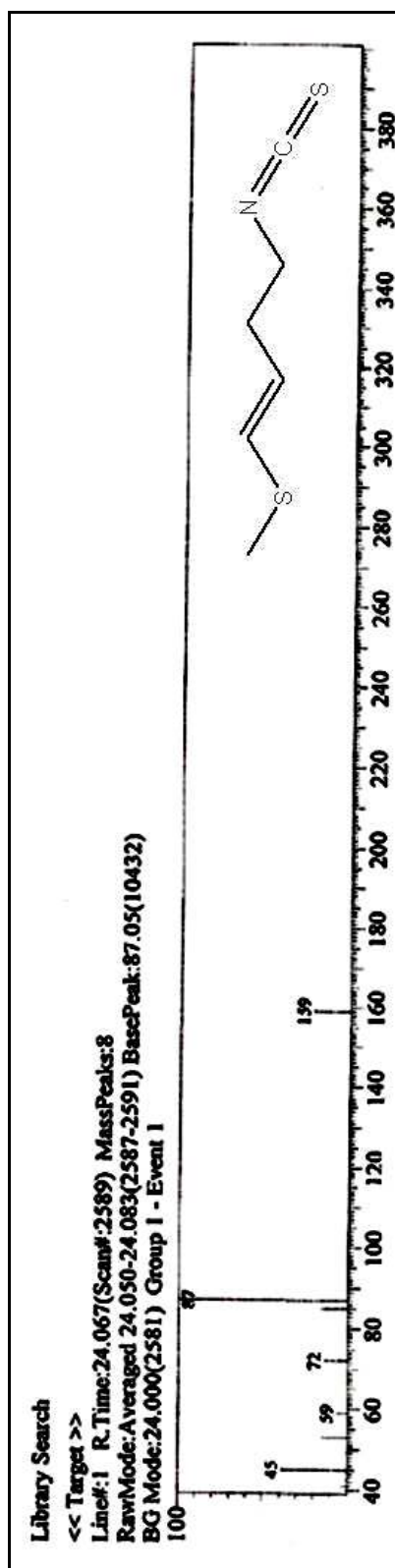
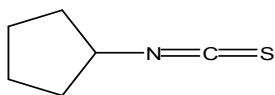


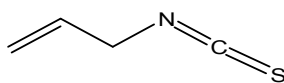
Figura 103: Espectro de massas por impacto de elétrons a 70 eV do isotiocianato de 4-(metilto)-3-butenila com TR 24,07 min. da fração RCHV.

isotiocianatos

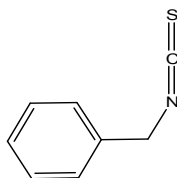
Isotiocianato de ciclopentila



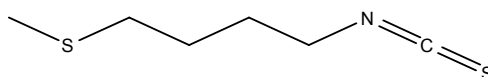
Isotiocianato de 3-butenila



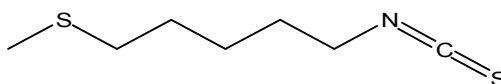
Isotiocianato de benzila



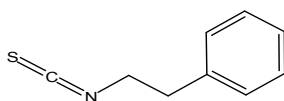
Isotiocianato de 4-(metilto) butila



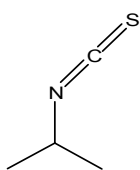
Isotiocianato de 5-(metilto) pentila



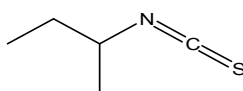
Isotiocianato de 2-feniletila



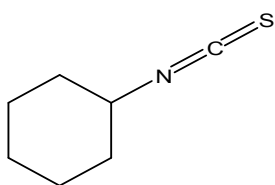
Isotiocianato de isopropila



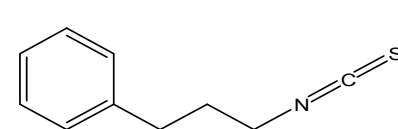
Isotiocianato de *sec*-butila



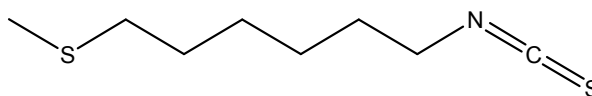
Isotiocianato de cicloexila



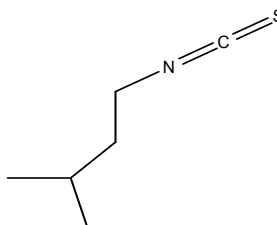
Isotiocianato de 3-fenilpropila



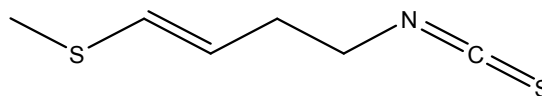
Isotiocianato de 6-(metiltio) hexila



Isotiocianato de 4-metilpentila

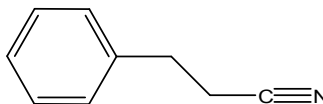


Isotiocianato de 4-(metiltio)-3-butenila

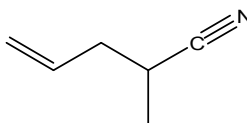


nitrilas

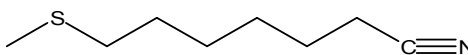
Benzopropanonitrila



2-metil-5-hexenonitrila

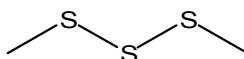


6-(metiltio) hexanonitrila



Outros derivados

Trissulfeto de dimetila



Ciclotiooctano

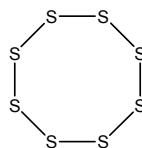


Figura 104: Estruturas químicas dos derivados de glicosinolatos detectados nas raízes de *Brassica rapa* L. e *Raphanus sativus* L. e nas folhas de *Eruca sativa* Mill.