



**UNIVERSIDADE FEDERAL DA BAHIA  
INSTITUTO DE QUÍMICA  
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM QUÍMICA**

**EMMANUELLE FERREIRA REQUIÃO SILVA**

**PÉTALAS DE ROSA (*Rosa spp.*): UMA FONTE ALTERNATIVA  
DE NUTRIENTES NA ALIMENTAÇÃO**

Salvador - Ba

2015

EMMANUELLE FERREIRA REQUIÃO SILVA

**PÉTALAS DE ROSA (*Rosa spp.*): UMA FONTE ALTERNATIVA  
DE NUTRIENTES NA ALIMENTAÇÃO**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Química da Universidade Federal da Bahia como requisito para a obtenção de grau de Mestre em Química Analítica.

Orientadora: Prof.<sup>a</sup> Dra. Ana Maria Pinto dos Santos

Salvador - Ba

2015

Sistema de Bibliotecas - UFBA

Silva, Emmanuelle Ferreira Requião.

*Pétalas de rosa (Rosa spp.): Uma fonte alternativa de nutrientes na alimentação /*  
Emmanuelle Ferreira Requião Silva. - 2015.

72 f. : il.

Orientadora: Profª. Drª. Ana Maria Pinto dos Santos .

Dissertação (mestrado) - Universidade Federal da Bahia, Instituto de Química,  
Salvador, 2015.

1. Rosa – Petalas. 2. Plantas - Compostos bioativos. 3. Rosa - Nutrição. 4.  
Espectrometria I. Santos, Ana Maria Pinto dos. II. Universidade Federal da Bahia.  
Instituto de Química. III. Título.

CDD – 583.734

CDU – 543.3:5734.3

## DEDICATÓRIA

Dedico este trabalho à minha avó Herminia dos Santos, *in memoriam*, à minha mãe Elza Ferreira, minha família, meu noivo Giverson Carlos, meus amigos e todos que contribuíram para realização desse sonho.

## AGRADECIMENTOS

Agradeço a Deus por ter dado forças nos momentos decisivos da minha vida.

À minha mãe Elza Ferreira por todo amor, carinho, dedicação e educação para ser o que sou hoje.

À minha orientadora Profa. Dra. Ana Maria Pinto dos Santos por ter acreditado em mim, pela oportunidade de aprendizado, confiança e paciência, que contribuíram para o meu desenvolvimento acadêmico ao longo desta jornada.

Ao Prof. Dr. Sérgio um exemplo de profissional a ser seguido devido ao seu caráter humilde e carinhoso com os integrantes do seu grupo GPQQ, agradeço as excelentes contribuições no decorrer deste trabalho.

Ao meu pai Eneilson Requião por me ajudar a conquistar mais um dos meus objetivos.

Ao meu padrasto Florisvaldo Linhares por me animar nos momentos difíceis.

Aos meus tios (as) e primos (as) pelos momentos felizes em família.

À minha madrinha Sônia Pinheiro e as tias Eliana Viana, Tatiana Badaró, Iolanda Santos, Nadja Costa e Iraci Moureira por dividirem as experiências e me apoiarem na jornada que caminhamos juntos.

À profa. Dra. Idália Estevam contribuiu para minha formação científica na graduação na UNEB.

À profa. Guaraci Mendes por ter descoberto a minha habilidade nesta ciência no Ensino Médio.

Aos integrantes do grupo GPQQ pelo apoio sempre que necessário, especialmente à Liz, Ivanice, Geovani, Luise, Gissele, Fernanda, Gabriela Marinho, Mário, Danilo, Augusto, Lorena...

Ao prof. Dr. Walter Nei, profa. Celeste Sauthier, integrantes do GPDQA e às técnicas Carla, Marineuza e Dona Antônia do laboratório de Química da Uneb.

Aos integrantes do grupo GPQA pela colaboração, em singular a profa Dra Maria das Graça Korn, Isa e Gabriel.

A todos os meus amigos por fazerem parte dos momentos felizes e torcendo para meu sucesso.

À minha amiga Bruna Rosa que desde a graduação sempre disposta a ouvir os meus desabaços e os momentos felizes.

A agência de fomento CAPES pelo auxílio financeiro que me foi concedido.

Ao programa de pós-graduação em Química da UFBA, pela oportunidade de aprendizado adquirida através do corpo docente e os funcionários Michael, Luciana e Cristiane.

Aos funcionários do Instituto de Química, especialmente dona Margarida.

Enfim, agradeço a todos que contribuíram para a realização deste trabalho.

## RESUMO

A rosa (*Rosa* spp.), introduzida no Brasil pelos jesuítas, é considerada uma planta exótica adaptando-se às condições climáticas. Recentemente, as pétalas das rosas têm sido utilizadas em novas receitas culinárias e bebidas em virtude das propriedades organolépticas. As amostras foram coletadas nos períodos de verão e inverno em uma fazenda localizada no Sudoeste da Bahia no Brasil. O planejamento fatorial completo  $2^3$  foi aplicado na otimização do método de digestão ácida para avaliação dos volumes da mistura oxidativa  $\text{HNO}_3/\text{H}_2\text{SO}_4/\text{H}_2\text{O}_2$ , o qual se estabeleceu a condição mínima como ótima para rosa branca *in natura*. Para rosas coloridas a abertura da amostra foi feita aumentando-se o volume de ácido nítrico para 2,5 mL. Os micro e macroelementos foram determinados em dez variedades de pétalas de rosa *in natura* incluídos: Ca, K, Mg, P, Cu, Fe, Mn e Zn analisados por espectrometria de emissão óptica com plasma indutivamente acoplado (ICP OES). A exatidão foi comprovada utilizando-se três materiais de referências certificados sendo eles: folha de maçã, SRM 1515; folha de pêsego, SRM 1547 e folha de espinafre, SRM 1570a. A precisão foi avaliada através do desvio padrão relativo obtendo-se valor inferior a 5%. Para determinação dos compostos fenólicos totais (TPC) e flavonóides totais (TF) em cinco variedades de pétalas de rosas por espectroscopia UV-VIS. Análise de componentes principais (PCA) e análise e agrupamento hierárquico (HCA) foram aplicadas para avaliar os dados em diferentes sazonalidades (verão e inverno) referentes à composição elementar. Analisando os resultados referentes à composição mineral, TPC e TF, têm se para a coleta verão os melhores valores das médias de concentração, com exceção Mn e comportamento anômalo TF para rosas vermelha e laranja. Os resultados obtidos das amostras analisadas referente à composição mineral, TPC e TF têm a faixa de concentração dos valores médios para a coleta do verão para Ca (156 a 301), Mg (291 a 421), P (322 a 633), Cu (1,10 a 2,42), Fe (5,24 a 9,57), Mn (2,77 a 4,68) e Zn (2,18 a 4,34) expressa em  $\text{mg kg}^{-1}$ , TPC entre 118 a 765  $\text{mg}_{\text{EAG}} 100\text{g}^{-1}$  e TF 14,2 a 328  $\text{mg}_{\text{EQ}} 100\text{g}^{-1}$ . No inverno apresentaram para Ca (47,6 a 111), Cu (0,59 a 1,04), Fe (2,39 a 4,90), P (194 a 417), Mg (184 a 275), Mn (17,0 a 85,2) e Zn (0,86 a 1,80) expressa em  $\text{mg kg}^{-1}$ , TPC entre 103 a 420  $\text{mg}_{\text{EAG}} 100\text{g}^{-1}$  e TF 20,1 a 212  $\text{mg}_{\text{EQ}} 100\text{g}^{-1}$ . As amostras de pétalas de rosa foram classificadas de acordo com a classificação da FDA como “boas ou excelentes fontes” para um determinado mineral, segundo o percentual de contribuição para a IDR. Assim, as pétalas de rosa podem ser utilizadas como um poderoso complemento nutricional na dieta humana.

Palavras-chaves: pétalas de rosa; determinação elementar; compostos bioativos; Planejamento fatorial; PCA; HCA; ICP OES; espectrofotometria UV-VIS.

## ABSTRACT

The rose (Rose spp.), introduced in Brazil by the Jesuits, is considered an exotic plant adapting climate conditions. Recently, rose petals have been used in new cooking recipes and beverages in view of organoleptic properties. The samples were collected in the summer and winter periods on a farm located in the South West of Bahia in Brazil. The  $2^3$  full factorial design applied to optimize the acid digestion method to evaluate the volumes of oxidative mixture  $\text{HNO}_3 / \text{H}_2\text{SO}_4 / \text{H}_2\text{O}_2$ , which established the minimum condition as excellent for white rose *in nature*. For colored roses opening the sample was developed by increasing the nitric acid to 2.5 mL volume. The micro- and macro-elements was determined in ten varieties of rose petals *in nature* including: Ca, K, Mg, P, Cu, Fe, Mn and Zn analyzed by optical emission spectrometry with inductively coupled plasma (ICP OES). The accuracy was verified using three references certified materials which are: apple leaves, SRM 1515; peach leaves, SRM 1547 and spinach leaves 1570th SRM. Precision was evaluated by obtaining the standard deviation of less than 5%. For determination of total phenolic compounds (TPC) and total flavonoids (TF) in five varieties of rose petals was employed UV-VIS. Principal component analysis (PCA), hierarchical clustering and analysis (HCA) were applied to evaluate the data in the different seasons (summer and winter) concerning the elemental composition. Analyzing the results of the mineral composition, TPC and TF, they have to collect the best summer mean values of concentration, except Mn and anomalous behavior TF for red roses and orange. The results of the samples related to the mineral composition, TPC and TF, have the concentration range of the average values for the summer collection were: Ca (156 to 301), Mg (291 to 421), P (322 to 633), Cu (1.10 to 2.42), Fe (5.24 to 9.57) Mn (2.77 to 4.68) and Zn (2.18 to 4.34) in  $\text{mg kg}^{-1}$ , TPC between 118 to 765  $\text{mg}_{\text{EAG}} 100\text{g}^{-1}$  and TF 14,2 to 328  $\text{mg}_{\text{EQ}} 100\text{g}^{-1}$ . In winter they presented to Ca (111 to 47.6), Cu (0.59 to 1.04), Fe (2.39 to 4.90), P (194 to 417), Mg (184 to 275), Mn (17.0 to 85.2) and Zn (0.86 to 1.80) in  $\text{mg kg}^{-1}$ , TPC between 103 to 420  $\text{mg}_{\text{EAG}} 100\text{g}^{-1}$  and TF 20,1 to 212  $\text{mg}_{\text{EQ}} 100\text{g}^{-1}$ . The rose petals samples were classified in accordance to the FDA categorization as "good or excellent sources" for a certain mineral, according to its percentage of contribution for the IDR. Thus, the rose petals can be used as a powerful nutritional supplement the human diet.

Keywords: rose petals; elementary determination; bioactive compounds; full factorial design; PCA; HCA; ICP OES; spectrometry UV-VIS.

## LISTA DE FIGURAS

<b>Figura 1.</b> Roseira	15
<b>Figura 2.</b> Morfologia da rosa	17
<b>Figura 3.</b> Esquema da célula vegetal	18
<b>Figura 4.</b> Exemplos de algumas estruturas químicas de ácidos fenólicos	28
<b>Figura 5.</b> Exemplos de estruturas químicas dos flavonóides	29
<b>Figura 6.</b> Informe geral sobre as variedades estudadas das <i>Rosa spp.</i>	31
<b>Figura 7.</b> Gráfico de Pareto	40
<b>Figura 8.</b> Estudo univariado do volume de H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub>	41
<b>Figura 9.</b> Carbono residual nas soluções resultantes da condição otimizada das variedades de rosas	42
<b>Figura 10.</b> Gráfico de peso PC1 x PC2 para as amostras de pétalas de rosa no período de verão e inverno	47
<b>Figura 11.</b> Gráfico de escores (A e B) para avaliação da composição mineral em diferentes pétalas de rosas	48
<b>Figura 12.</b> Dendrograma para amostras de rosa mostrando o método de Ward com distâncias Euclidianas	49
<b>Figura 13.</b> Percentuais do teor de umidade em pétalas de rosa colhidas no verão	52
<b>Figura 14.</b> Curva de calibração do ácido gálico para determinação do teor compostos fenólicos totais	53
<b>Figura 15.</b> Reação do ácido gálico com molibdênio do reagente de Folin	54
<b>Figura 16.</b> Teor de fenólicos totais em pétalas de rosas nos períodos de verão e inverno	54
<b>Figura 17.</b> Curva de calibração da quercetina para determinação de flavonóides totais	56
<b>Figura 18.</b> Formação do complexo flavonóide-Al em solução metanólica de AlCl <sub>3</sub>	57
<b>Figura 19.</b> Teor de flavonóides totais em pétalas de rosas nos períodos de verão e inverno	57



## LISTA DE TABELAS

<b>Tabela 1.</b> Incorporação e modo de ação dos elementos na planta	19
<b>Tabela 2.</b> Principais funções e deficiências dos minerais no organismo humano	21
<b>Tabela 3.</b> Estudos descritos na literatura sobre determinação de elementos em flores comestíveis	23
<b>Tabela 4.</b> Matriz codificada $2^3$ para planejamento hipotético	25
<b>Tabela 5.</b> Parâmetros instrumentais do ICP OES	34
<b>Tabela 6.</b> Fatores e níveis da otimização experimental	39
<b>Tabela 7.</b> Matriz do planejamento fatorial completo $2^3$ com resposta múltipla	40
<b>Tabela 8.</b> Figuras de mérito em amostras de rosas	43
<b>Tabela 9.</b> Determinação de elementos em material de referência certificado SRM 1515, SRM 1547 e SRM 1570a por ICP OES	44
<b>Tabela 10.</b> Médias de concentrações da composição mineral das amostras pétalas de rosas (expressos em $\text{mg Kg}^{-1}$ ) coletadas no verão e inverno	45
<b>Tabela 11.</b> Pesos das variáveis para as três primeiras componentes principais	46
<b>Tabela 12.</b> Comparação entre as concentrações de minerais em amostras de rosas e alguns vegetais	50
<b>Tabela 13.</b> Contribuição percentual da IDR para composição mineral das pétalas de rosa em 100 g	51
<b>Tabela 14.</b> Teores médios de fenólicos totais dos extratos de pétalas de rosas	55
<b>Tabela 15.</b> Teores médios de flavonóides totais dos extratos de pétalas de rosas	58

## LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

**ET AAS** Espectrometria de absorção atômica com atomização eletrotérmica (do inglês, *Electrothermal atomic absorption spectrometry*)

**FAO** Organização das Nações Unidas para Agricultura e Alimentação (do inglês, *Food and Agriculture Organization of the United Nations*)

**F AAS** Espectrometria de absorção em chama (do inglês, *Flame atomic absorption spectrometry*)

**FDA** Administração de Alimentos e Medicamentos (do inglês, *Food and drug administration*)

**HCA** Análise de Componentes Hierárquicos (do inglês, *Hierarchical cluster analysis*)

**HG AAS** Espectrometria de absorção atômica com geração de hidretos (do inglês, *Hydride generation atomic absorption spectrometry*)

**ICP OES** Espectrometria de emissão óptica com plasma indutivamente acoplado (do inglês, *Inductively coupled plasma optical emission spectrometry*)

**ICP MS** Espectrometria de massas com plasma acoplado indutivamente (do inglês, *Inductively coupled plasma mass spectroscopy*)

**IUPAC** União Internacional de Química Pura e Aplicada (do inglês, *International Union of Pure and Applied Chemistry*)

**IDR** Ingestão diária recomendada

**LD** Limite de Detecção

**LQ** Limite de Quantificação

**NEPA** Núcleo de Estudos e Pesquisas em Alimentação

**NIST** Instituto Nacional de Padrões e Tecnologia (do inglês, *National Institute of Standards and Technology*)

**OMS** Organização Mundial de Saúde

**PCA** Análise de Componentes Principais (do inglês, *Principal component analysis*)

**CP** Componente principal

**RA** Rosa amarela

**RAPR** Rosa amarela com a ponta rosa

**RAPV** Rosa amarela com ponta vermelha

**RAVLA** Rosa amarela e ponta vermelha por fora e laranja por dentro

**RB** Rosa branca

**RCC** Teor de carbono residual (do inglês, *Residual carbon content*)

**RDA** Valor Diário Permitido (do inglês, *Recommended dietary allowances*)

**RL** Rosa lilás

**RLA** Rosa laranja

**RPi** Rosa *pink*

**RRV** Rosa por fora e vermelha por dentro

**RSD** Desvio Padrão Relativo (do inglês, *Relative standard deviation*)

**RV** Rosa vermelha

**SRM** Material de Referência Certificado (do inglês, *Standard reference material*)

**TACO** Tabela Brasileira de Composição de Alimentos

**TF** Teor de flavonóides totais (do inglês, *Total flavonoid contents*)

**TPC** Teor de fenólicos totais (do inglês, *Total phenolic compounds*)

## SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO.....	13
2. ROSA ( <i>Rosa spp.</i> ) .....	15
<b>2.1 Características, produção e aplicabilidade na alimentação .....</b>	<b>17</b>
3. IMPORTÂNCIA DA COMPOSIÇÃO MINERAL EM ALIMENTOS.....	21
<b>3.1 Técnicas analíticas para a determinação elementar em flores .....</b>	<b>22</b>
<b>3.2. Técnicas quimiométricas para avaliar a composição mineral .....</b>	<b>24</b>
4. COMPOSTOS BIOATIVOS .....	28
5. OBJETIVOS.....	30
<b>5.1 Objetivo geral .....</b>	<b>30</b>
<b>5.2 Objetivos específicos.....</b>	<b>30</b>
6. PROCEDIMENTO EXPERIMENTAL .....	31
<b>6.1 Amostragem .....</b>	<b>31</b>
<b>6.2 Determinação macro e micro elementos por ICP OES .....</b>	<b>33</b>
6.2.1 Reagentes e soluções.....	33
6.2.2 Pré-tratamento das amostras .....	33
6.2.3 Equipamentos e acessórios.....	34
6.2.4 Procedimento de digestão com a validação do método proposto.....	35
6.2.5 Determinação da acidez e carbono residual dos digeridos .....	35
6.2.6 Análise Quimiométrica.....	36
<b>6.3 Determinação do teor de umidade.....</b>	<b>36</b>
<b>6.4 Determinação de compostos bioativos por espectrofotometria UV-VIS .....</b>	<b>36</b>
6.4.1 Reagentes e soluções.....	36
6.4.2 Equipamentos e acessórios.....	37
6.4.3 Pré-tratamento das amostras .....	37
6.4.4 Determinação do teor de fenólicos totais (TPC) .....	37
6.4.5 Determinação do teor de flavonóides totais (TF).....	38
7. RESULTADOS E DISCUSSÕES.....	39
<b>7.1 Otimização do método de digestão ácida .....</b>	<b>39</b>
<b>7.2 Estudo de validação.....</b>	<b>43</b>
<b>7.3 Avaliação da concentração elementar em amostras de pétalas de rosas ...</b>	<b>45</b>
<b>7.4 Tratamento de dados por análise multivariada .....</b>	<b>46</b>

<b>7.5 Composição mineral em amostras de pétalas de rosas .....</b>	<b>50</b>
<b>7.6 Contribuições das pétalas de rosa para o IDR .....</b>	<b>51</b>
<b>7.7 Determinação do teor de umidade.....</b>	<b>52</b>
<b>7.8 Determinação compostos bioativos por espectrofotometria molecular .....</b>	<b>53</b>
7.8.1 Teor de fenólicos totais (TPC) .....	53
7.8.2 Flavonóides totais (TF).....	56
8. CONCLUSÃO .....	60
9. PERSPECTIVAS FUTURAS .....	61
REFERÊNCIAS .....	62

## 1. INTRODUÇÃO

A aparência e a qualidade das flores comestíveis são fundamentais para o consumo humano, pois suas pétalas são excelentes fontes de minerais, vitaminas, proteínas e substâncias antioxidantes [1, 2]. Várias espécies de flores são usadas na alimentação em toda parte do mundo desde a antiguidade, por exemplo: calêndula (*Calendula officinalis*), usada em várias saladas na França medieval, as flores de dente-de-leão (*Taraxacum officinale*), utilizadas na preparação de bebidas e saladas na Europa, inflorescência de açafrão (*Crocus*), sendo aplicada como corantes alimentícios e outras [3].

Dentre as flores comestíveis, destacam-se as rosas por ser uma planta exótica introduzida no Brasil pelos jesuítas que se adaptaram às condições climáticas. Recentemente, as pétalas de rosas (*Rosa spp.*) têm sido utilizadas em novas receitas de prato culinário e bebidas, apresentando interesse renovado referente às propriedades organolépticas. Estas rosas são usadas na forma *in natura*, macerada, seca e torrada no preparo das refeições [4, 5].

A ingestão diária de minerais é fundamental para regulação das funções vitais no corpo humano. Os minerais essenciais quando absorvidos em quantidades adequadas, possibilitam participarem da constituição e biofunções no organismo, por exemplo: sangue, ossos, músculos, células nervosas, processos metabólicos e manutenção do equilíbrio hídrico [6]. Entretanto, o organismo humano não sintetiza os minerais sendo necessário obter-los através da alimentação que pode ser de origem vegetal, animal e industrializados. Estudos mostram que a ingestão regular de vegetais como legumes, frutas, verduras e hortaliças diminuem o risco de doenças cardiovasculares, diabetes, câncer e hipertensão [7]. Existem recomendações da Organização Mundial de Saúde (OMS) e Organização das Nações Unidas para Agricultura e Alimentação (FAO) em relatório sobre alimentação, nutrição e prevenção de doenças crônicas sugerindo o consumo mínimo de 400 g de verduras e frutas por dia com exceção de batatas e outros tubérculos, visando garantir uma dose adequada dos nutrientes inorgânicos e orgânicos [8].

Dentre as técnicas analíticas usadas na determinação de macro e microelementos inorgânicos em alimento, a espectrometria de emissão óptica com

plasma indutivamente acoplado (ICP OES) apresenta vantagens como: ser multielementar, ter boa sensibilidade, baixos limites de detecção e alta frequência analítica. Esta técnica foi utilizada para determinação da composição mineral em diferentes espécies de flores amplamente divulgadas no meio científico, evidenciados por Jurca *et al.* na *Hypericum Perforatum* L. [9], Mitic *et al.* na *Stachys germânica* L. [10], Naeem *et al.* na *Fagonia cretica* [11], entre outros.

Os compostos polifenóis incluem os grupos de flavonóides e ácidos fenólicos considerados substâncias bioativas que possuem ação antioxidante e papéis fundamentais na prevenção de doenças degenerativas e patológicas relacionadas ao stress [12]. A ingestão de moléculas que atuam como antioxidantes possibilitam eliminar espécies de radicais livres, defendendo as células a possíveis danos, o que motiva o crescimento em pesquisa científica nesta área [13].

A espectrofotometria de absorção no ultravioleta e visível (UV-VIS) pode ser empregada para determinar fenólicos totais e flavonóides totais que são encontrados em alimentos e bebidas consumidos em frutas, verduras, chás, vinhos e soja [14, 15]. Esta técnica analítica apresenta como vantagens robustez, baixo custo e facilidade na interpretação dos resultados, medindo o comprimento de onda específico para cada composto bioativo.

As rosas de cultivo orgânico, sem uso de produtos químicos, podem ser utilizadas na alimentação. As pétalas de rosa têm despertado interesse renovado na culinária para elaboração de novas receitas e bebidas, devido as suas propriedades organolépticas. Este trabalho tem objetivo de analisar a composição mineral e os compostos bioativos (fenólicos totais e flavonóides totais) em variedades de pétalas de rosa (*Rosa spp.*) colhidas na cidade de Itiruçu, no estado da Bahia. Visa contribuir no âmbito científico com valores nutricionais desta matriz para a tabela de alimentos e a elaboração de dietas terapêuticas.

## 2. ROSA (*Rosa spp.*)

As flores mais cultivadas no mundo desde a Antiguidade são as rosas (*Rosa spp.*), pertencendo à família Rosacea, apresentando características intrínsecas como cor, sabor, aroma e beleza. As civilizações antigas aproveitavam estas propriedades para utilizar na ornamentação de ambientes, jardins, culinária, medicina, religião, alimentação de animais, condecorações, medalhas, símbolo, dinheiro, inspiração para várias formas de arte e literatura ao longo dos tempos [16, 17].

**Figura 1.** Roseira



A taxonômia desta florífera segundo United States Department of Agriculture (2015) [18]:

- Nome científico: *Rosa spp.*
- Reino: Plantae
- Divisão: Magnoliophyta
- Classe: Magnoliopsida
- Ordem: Rosales
- Família: Rosaceae
- Gênero: Rosa L.
- Espécie: R. spp
- Nome popular: Rosa, rosa-arbustiva, rosa-silvestre, rosa-de-corte, roseira, roseira-grandiflora



Existem cerca de 200 espécies de rosas silvestres cultivadas no mundo, contendo mais 30 mil variedades e híbridos que sofreu influência dos produtos de cruzamento e retrocruzamento [19]. Estudos evidenciaram a idade estimada de rosas encontradas no hemisfério norte e zonas temperadas. Os fósseis de 3 a 40 milhões de anos foram localizados nas regiões da Bulgária, Alemanha, Estados Unidos, França, China e Japão, evidenciando a distribuição das roseiras por diferentes países [20, 21, 22]. Entretanto, com a realização de análises moleculares do DNA das espécies de rosas comprovou-se que existem há 200 milhões de anos [23, 24]. Estes fatos mostram que a história da rosa é mais antiga que a da humanidade, cujo surgimento da espécie *Homo sapiens* há 500 mil anos [25].

O primeiro cultivo de rosas foi provavelmente na Dinastia Shen Nung na China, entre o período de 2737 e 2697 a.C., tornando-se popular em 500 a.C., segundo relato de Confúcio (561-479 a.C). Nos antigos jardins da Pérsia, atualmente Irã, eram levadas para Babilônia como símbolo de poder de Estado. A imperatriz Josephine, primeira esposa de Napoleão Bonaparte, organizou a primeira coleção internacional de rosa [20, 24, 26].

É considerada uma planta exótica no Brasil por ser trazida pelos jesuítas nos períodos de 1560 a 1570. Foi plantada na adjacência da Vila Piratininga, atualmente cidade de São Paulo, sendo que as flores destas primeiras roseiras eram usadas em solenidades religiosas [4]. O plantio de roseiras em jardins públicos aconteceu a partir de 1829, quando D. Pedro I criou a Ordem da Rosa para homenagear os nobres por seus feitos [23, 27].

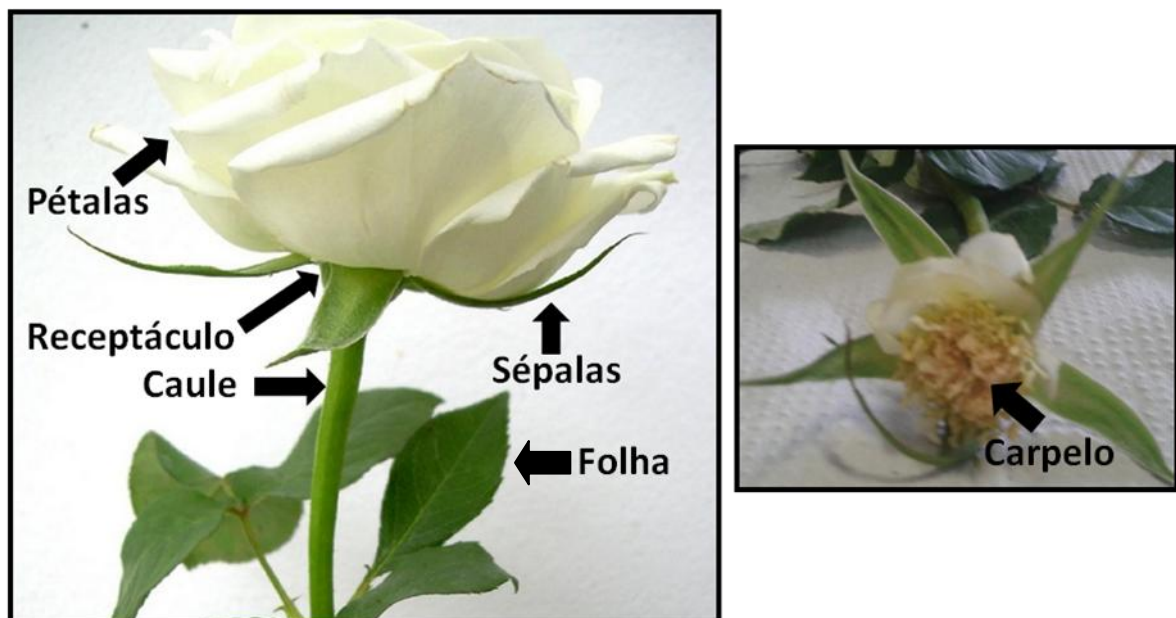
No Brasil, a produção das mudas de rosas de corte é obtida por propagação assexuada, através do método de enxertia, proporcionando a qualidade das diferentes roseiras [28]. Encontraram condições favoráveis para seu cultivo, devido há milhares de variedades híbridas que se adaptou às condições do clima tropical e sub-tropical [19, 29]. A rosa tem papel fundamental para economia tanto na importação como exportação, amplamente cultivado no Nordeste e Sudeste do país [30]. Apresenta importância na alimentação com as flores comestíveis de cultivo orgânico não contendo agrotóxicos e pesticidas. As pétalas são constituídas de minerais, proteínas, gorduras, vitaminas e compostos bioativos (flavonóides, fenólicos e outros) que diferem das outras plantas, considerada como nova promissora na nutrição humana [1].

## 2.1 Características, produção e aplicabilidade na alimentação

As plantas com flores são classificadas como angiospermas derivada da palavra grega *angeion* e *sperma*, significa “vaso” e “semente”, respectivamente. A flor é considerada um sistema caulinar determinado, no qual cresce um ramo por um tempo limitado [31]. No caso da rosa é classificada como uma planta perene, folhas caducas e semi-arbustiva [32].

A rosa apresenta a seguinte estrutura vegetal: carpelo, sépalas, pétalas e receptáculo (Figura 2). O carpelo é o vaso que contém os óvulos desenvolvendo em sementes após a fecundação. As sépalas estão localizadas abaixo das pétalas, recobrando e protegendo o botão floral formando o cálice que geralmente são espessos e verdes. As pétalas são folhas modificadas apresentando características do tipo colorida, brilhante e mais finas formando a corola, tornando especializada em atrair os insetos para polinização. O receptáculo é a parte do eixo que está ligado as peças da flor [31].

**Figura 2.** Morfologia da rosa



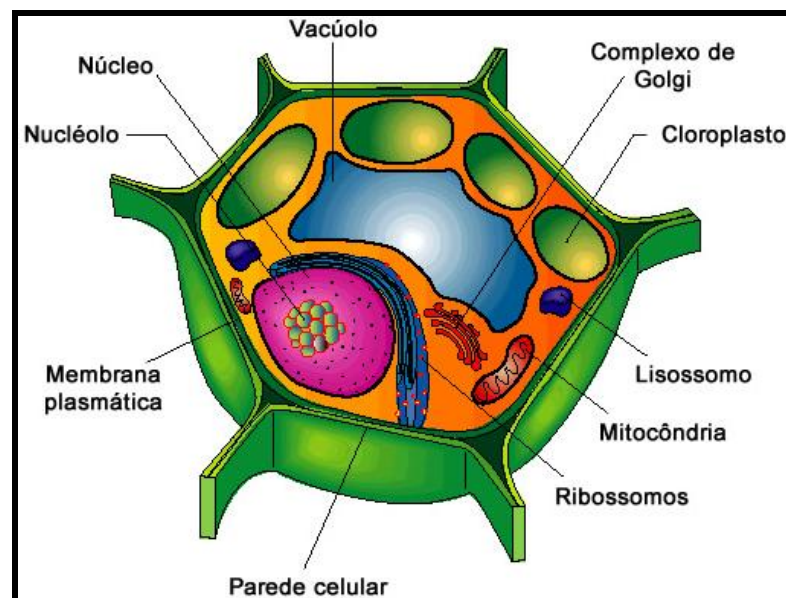
Nas espécies vegetais têm os metabólitos primários e secundários, sendo que o primeiro participa das funções básicas fundamentais para a vida celular, tais como: crescimento celular, divisão, reprodução, respiração e biossíntese de substâncias,

por aminoácidos. Já o segundo age nas diversas atividades biológicas, responsáveis pelas interações intra e intercelular do organismo vegetal, participando dos processos de polinização através das substâncias que aproximam os agentes vivos, além de contribuir para resistência e defesa das plantas contra os patógenos, produzindo antifúngicos, antivirais e antibióticos, possibilitando a sobrevivência ambiental [33, 34].

No caso das rosas os metabólitos secundários contribuíram nas cores das pétalas, aromas e resistências contra doenças e pestes, favorecendo adaptação e sobrevivência nas condições ambientais adequadas. A coloração floral presente nas pétalas evoluiu com o processo de cruzamento ou sistema de polinização realizado por insetos ou pássaros, também as cores variadas funcionam como avisos para espécies de animais [35, 36].

A pigmentação das flores está concentrada na corola, constituindo nas características intrínsecas das plantas floríferas, sobretudo determinada pelos carotenóides e flavonóides. A função dos compostos bioativos no caso dos carotenóides tem os pigmentos amarelos e lipossolúveis acontecendo nos plastídios (cloroplastos e cromoplastos), agindo na fotossíntese como pigmentos acessórios. Já os flavonóides são hidrossolúveis localizados no vacúolo [31]. Na Figura 3 mostra a estrutura da célula vegetal.

**Figura 3.** Esquema da célula vegetal



Fonte: (<<http://www.infoescola.com/citologia/celula-vegetal/>>). Acesso em set 2015.

A decomposição da matéria orgânica composta de plantas e animais ocorre lentamente, disponibilizando os minerais para o solo que será adquirido pelas plantas. Os minerais presentes no solo estão na forma ligada e solúvel, podendo ser absorvidos como íons inorgânicos que serão depositado no suco celular ou incorporado na estrutura vegetal. Esta absorção de minerais pelas plantas terrestres acontece por meio de um sistema radicular especializado ou pequena quantidade pela superfície da parte aérea [37].

Para o crescimento da planta é importante a presença dos minerais que serão classificados como macro e micronutrientes, conforme a concentração relativa encontrada no tecido vegetal. O conteúdo mineral das plantas é variável dependendo dos fatores de condições climáticas, idade do tecido vegetal, composição química do meio, entre outros [38]. Estes contribuem nos aspectos da estrutura e metabolismo de um vegetal representado na Tabela 1, mas a deficiência implicará em anormalidades severas, prejudicando no crescimento, desenvolvimento e reprodução [39].

**Tabela 1.** Incorporação e modo de ação dos elementos na planta

Nutriente mineral	Absorvido como	Incorporado na planta
Ca	Ca <sup>2+</sup>	Nas formas de íon, sal solúvel, cristalino e incrustado, como quelato e ligado a pectatos.
Cu	Cu <sup>1+</sup> e Cu <sup>2+</sup>	Na forma de complexo (plastocianina) e componente de enzimas (citocromo-oxidase, fenol-oxidase).
Fe	Fe <sup>2+</sup> e Fe <sup>3+</sup> formando quelatos	Compostos orgânicos contendo metais, como componentes de enzimas (catalase, citocromo, ferredoxina, heme, peroxidase e nitrato-redutase).
K	K <sup>1+</sup>	Na forma de íon dissolvido inicialmente no citosol celular e absorvido.
Mg	Mg <sup>2+</sup>	Na forma de íon dissolvido e absorvido, ligados em complexos e matéria orgânica (clorofila, pectatos, como componente de enzimas e ribossomos)
Mn	Mn <sup>1+</sup> e Mn <sup>2+</sup> quelato	Componente de enzimas (piruvato e carboxilase), compostos orgânicos contendo metais e formando complexos.
P	H <sub>2</sub> PO <sub>4</sub> <sup>1-</sup> e HPO <sub>4</sub> <sup>2-</sup>	Na forma de íon em compostos estéricos, fosfatídeos, fitina e nucleotídeos.
Zn	Zn <sup>1+</sup> e Zn <sup>2+</sup> quelatos	Componente de enzimas (álcool-desidrogenase, anidrase carbônica).

Fonte: Adaptado LARCHER, 2000 [37].

A floricultura está em ascensão no Brasil e no mundo, trazendo benefícios no setor do agronegócio como fixação da mão-de-obra em zona rural, gerador de renda e cultura alternativa para os pequenos produtores [40]. A produção de flores de corte e ornamentais têm se expandido no Estado da Bahia, principalmente pelas condições climáticas de cada região. Atualmente, nos municípios Amélia Rodrigues, Camaçari, Ilhéus, Ituberá, Maracás, Morro do Chapéu, dentre outros, demonstra um crescimento nas áreas de cultivo através de iniciativa dos produtores e apoio do governo do Estado. A colaboração do governo da Bahia estabelece parcerias com instituições públicas e privadas, visando organizar a cadeia produtiva das flores e plantas ornamentais [41].

As pétalas de rosa destacam-se na alimentação e remédios medicinais desde a antiguidade [42]. Entretanto, tem sido explorada para elaboração de novas receitas de pratos gastronômicos, como saladas, sobremesas, bebidas alcoólicas, infusões e refrescos, em virtude da sua cor, sabor e aroma característicos. Na gastronomia ocidental influenciada pelos árabes que combinava vários sabores na mistura de doce e salgado, aromatizando os alimentos com água de rosas, usando no preparo de geléias com pétalas de rosas [43, 44].

Investimento em sobremesa charmosa e delicada elaborada pelos *chefs*, estudando a harmonização com outros ingredientes que proporciona uma comida agradável ao paladar e aos olhos. No Brasil, utilizado no *petit gateau* com *ganache* de rosa, conhecidas internacionalmente de *cuit* rosas, é preparada pela infusão de pétalas, água de rosas, chocolates branco e meio amargo. Esta sobremesa encanta pela apresentação do prato, sabor suave e aroma adocicado. Vasta aplicação na fabricação de licor de pétalas de rosas, utilizando dois métodos de obtenção de extrato alcoólico, através da destilação aquosa ou deixar em contato por um tempo na solução hidroalcoólica, após filtrar para obter os corantes e princípios aromáticos extraídos da matéria-prima [45, 46].

Os primeiros a descobrir as propriedades medicinais da polpa dos frutos das rosas foram os chineses, extraíndo óleo das pétalas para utilizar no tratamento da pele e na perfumaria como essência, no processo da extração de 1 litro de óleo essencial é necessário 5 mil Kg de pétalas de rosas [47]. Também usada como plantas medicinais por moradores de Bandeirantes no Paraná – Brasil, em infusões e chá de pétalas de rosas das cores brancas e vermelhas com uso terapêutico, sendo indicado para cicatrização, rins e ferida na boca [48, 49].

### 3. IMPORTÂNCIA DA COMPOSIÇÃO MINERAL EM ALIMENTOS

A ingestão diária dos nutrientes inorgânicos e orgânicos é fundamental para o crescimento e a manutenção das funções vitais, que favorecem o equilíbrio do organismo humano [6]. A Tabela 2 mostra biofunções e deficiências de alguns elementos para o corpo humano [50, 51].

**Tabela 2.** Principais funções e deficiências dos minerais no organismo humano

Elemento	Ingestão diária recomendada (IDR) para adulto	Função	Deficiência
Cálcio [6, 52]	800 - 1000 mg/dia	Forma esqueleto, constituição de tecidos, músculos e o plasma sanguíneo	Retardamento do crescimento dos ossos, raquitismo e osteoporose
Cobre [6]	0,9 - 3 mg/dia	Produção da melanina, componente de enzimas, tecidos conectivos, cérebro, músculos e fígado	Provoca anemia, alterações na estrutura e pigmentação dos cabelos
Ferro [53]	8 - 14 mg/dia	Constituição hemoglobina, hemoproteína, mioglobina, várias enzimas e transporte do oxigênio	Provoca anemia, alterações de ferritina e diminuição da resistência do sistema imunológico
Fósforo [6, 52]	700 - 800 mg/dia	Componente estrutural das células, fosfolípidos, atividade enzimáticas, fonte de ATP (adenosina trifosfato), ossos, baço, fígado e músculos	Fraqueza muscular, parestesias, e distúrbios da atenção
Magnésio [6]	260 – 300 mg/dia	Cátion intracelular, reações enzimáticas, excitabilidade neural e troca iônica da membrana celular	Paralisação nos certos músculos, hiperexcitação neuromuscular e maior sensibilidade ao <i>stress</i>
Manganês [6, 54]	2,3 – 5 mg/dia	Ativador de sistemas enzimáticos (aminoácidos, carboidratos, colesterol, glicose), formação da uréia, ossos e combate radicais livres	Diminuição do esqueleto e infertilidade
Potássio [6, 55]	1950 – 5900 mg/dia	Síntese de proteínas, glicogênio, excitabilidade neuromuscular, regulação de água, relaxamento muscular, secreção de insulina pelo pâncreas	Debilidade muscular, Alterações na pressão arterial e no ritmo cardíaco
Sódio [6]	2400 mg/dia	Cátion extracelular, atuação na transmissão de impulso nervoso	Alteração na pressão arterial
Zinco [52, 55]	7 – 15 mg/dia	Função enzimática, constituinte do citoplasmático, formação dos ossos, crescimento tecidual, imunidade celular	Danificação na pele, atraso da maturação sexual, ossos, diminuição do sistema imunológico e crescimento

Os minerais absorvidos através da alimentação exercem funções essenciais na regulação, constituição, catalisação e processos metabólicos de diferentes

mecanismos celulares [56]. São responsáveis por promover os efeitos preventivos e terapêuticos nas doenças crônicas [57].

### **3.1 Técnicas analíticas para a determinação elementar em flores**

As técnicas espectroscópicas se baseiam nos fenômenos de absorção e emissão de radiações eletromagnéticas, situada nas regiões visível e ultravioleta, passando por excitação eletrônica os átomos neutros ou íons excitados, ocasionadas por um atomizador [58]. Estas técnicas apresentam características de seletividade e sensibilidade, sendo aplicadas para determinação elementar em várias matrizes. Atualmente, são utilizadas na quantificação de macro e micronutrientes em diferentes partes das plantas para avaliar a qualidade desses alimentos destinados para consumo humano [59].

Dentre as técnicas espectroanalíticas bastante divulgada é a espectrometria de absorção em chama (F AAS) que apresenta características de baixos custos relacionados ao equipamento e operacional, simplicidade na operação e menor número de linhas espectrais. Entretanto possui uma pequena faixa linear de trabalho e para matrizes com concentração muito baixa de alguns analitos esta técnica tornar-se inadequada [60]. A fotometria de chama analisa um número menor de metais comparada outras técnicas espectroscópicas [61]. Desta maneira, a espectrometria de absorção atômica com atomização eletrotérmica (ET AAS) é uma técnica monoelementar que possibilita a determinação de elementos traços em matrizes complexas, cujo limite de detecção é três vezes menor à F AAS isto melhora a sensibilidade [62]. A espectrometria de absorção atômica com geração de hidreto (HG AAS) determina analitos que formam espécies voláteis às limitações ocorre por concomitante e cinética de geração do vapor [63].

A espectrometria de massas com plasma acoplado indutivamente (ICP MS) é considerada de alta sensibilidade permitindo a detecção ultra-traço, que separa os analitos de interesse pela razão carga massa. Já a espectrometria de emissão óptica com plasma indutivamente acoplado (ICP OES) proporciona vantagens através da análise simultânea de metais e ametais (S, P, B e C), boa sensibilidade, baixos limites de detecção, alta frequência analítica. Estas técnicas ICP MS e ICP OES dosar elementos de baixa concentração e possuem capacidade multielementar [64].

**Tabela 3.** Estudos descritos na literatura sobre determinação de elementos em flores comestíveis

Espécie de flores	Parte da planta analisada	Analito	Procedimento	
			Preparo de amostra	Técnica de detecção
<i>Rosa spp.</i>	Flores	P, K, Na, Ca, Mg, S, Cu, Fe, Mn e Zn	Bloco de digestor com HNO <sub>3</sub> e HClO <sub>4</sub>	F AAS, Fotômetro de chama [65]
<i>Fagonia cretica</i>	Raízes, brotos, folhas, espinhos, flores e frutos	Al, Ca, Co, Cr, Cu, Fe, K, Mg, Mn, Na, Sr e Zn	Micro-ondas com HNO <sub>3</sub> , H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> e H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub>	ICP OES e FAAS [11]
<i>Hydrangea macrophylla</i>	Sépala e pétalas frescas	Al, K, Ca, Mg, P Fe, Ba, Mn, Sr e Zn	Placa de aquecimento com HNO <sub>3</sub> e depois HF	ICP OES [66]
<i>Matricaria chamomilla L., Mentha piperita, Rosa canina L., Hibiscus, Hyperici herba, Tilia</i>	Flores	Mn, Fe, Zn, Ni, Pb, Co, Cd, As (III) e As total	Micro-ondas com HNO <sub>3</sub> e H <sub>2</sub> O <sub>2</sub>	F AAS, ICP OES, ET AAS e HG AAS [67]
<i>Clinopodium vulgare L.</i>	Folhas, flores e caules	Ca, K, Mg, Al, Fe, Na, Zn, Mn, B, Sr, Cu, Cr, Ni, Pb, Ce, La e Cd	Micro-ondas com HNO <sub>3</sub> , H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> e HF	ICP MS e FAAS [68]
<i>Salvia officinalis L., Teucrium montanum L.</i>	Flores e folhas	Al, Ca, Cd, Co, Cr, Cu, Fe, K, Mg, Mn, Na, Ni, Pb, Sr e Zn	Micro-ondas com HNO <sub>3</sub> e H <sub>2</sub> O <sub>2</sub>	ICP OES [69]
<i>Hypericum perforatum</i>	Folhas e flores	Zn, Mn, Fe, Ba e K	Micro-ondas com HNO <sub>3</sub> , H <sub>2</sub> O <sub>2</sub>	ICP OES [9]
<i>Hypericum perforatum</i>	Folhas e flores	Ca, Cu, K, Li, Mg, Mn, Na, Ni e Zn	Digestão via úmida até seca com HNO <sub>3</sub> , depois adição de HClO <sub>4</sub> e gotas de HF	F AAS e ET AAS [70]
<i>Alchemilla velebica</i>	Folhas, flores e raízes	Al, B, Ba, Ca, Cd, Co, Cr, Cu, Fe, K, Li, Mg, Mn, Mo, Na, Ni, Pb, Se, Sr, e Zn	Micro-ondas com HNO <sub>3</sub> e H <sub>2</sub> O <sub>2</sub>	ICP OES e ICP MS [71]
<i>Echinacea purpurea</i>	Raízes, hastes, folhas e flores	Zn, Fe, Cu, Mn, Ca, Mg, Sr, Ni e Li	Calcinação em forno e dissolução com HNO <sub>3</sub> e HCl	F AAS e ICP OES [72]
<i>Antirrhinum majus, Begonia boliviensis, Centaurea cyanus, Chrysanthemum frutescens, Chrysanthemum parthenium, Dianthus caryophyllus, Fuchsia x hybrida, Impatiens walleriana, Rosa odorata, Tagetes patula, Tropaeolum majus, Viola x wittrockiana</i>	Flores	P, K, Ca, Mg, Na, Fe, Mn, Cu, Zn e Mo	Bloco digestor com H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> e H <sub>2</sub> O <sub>2</sub>	F AAS [73]



Na Tabela 3 são mostrados estudos descritos na literatura com os procedimentos analíticos para determinação dos macro e micronutrientes em diferentes espécies de flores comestíveis. Estas informações permitem comparar com outros alimentos e até elaboração de dietas nutricionais. Para a escolha da técnica analítica devem ser consideradas: a necessidade de determinação mono ou multielementar, recursos disponíveis no laboratório, quantidade das amostras, dentre outras.

A partir deste estudo as técnicas mais difundidas são F AAS e ICP OES, possivelmente pelos motivos do baixo custo e a análise multielementar, respectivamente. A composição mineral das espécies *Rosa spp.*, *Fagonia cretica*, *Echinacea purpúrea*, *Clinopodium vulgare L.*, *Hypericum perforatum*, *Echinacea purpúrea*, *Matricaria chamomilla L.*, *Mentha piperita*, *Rosa canina L.*, *Hibiscus*, *Hyperici herba* e *Tilia* foram determinada por F AAS, mas alguns elementos estavam abaixo do limite de quantificação, necessitando empregar ICP OES, ICP MS, ET AAS e HG AAS. No caso da *Rosa spp.* para determinação de Na e K utilizada a fotometria de chama, sendo limitado por quantificar poucos metais.

O ICP MS apresenta a vantagem da detecção de ultra-traço foi aplicado em dois tipos de plantas apresentados na Tabela 3, tais como: *Clinopodium vulgare L* para determinação de Al, Cd, Co, Cr, Cu, Pb, Sr, Zn, Ce, La, Mo, Ni, B, Mg, Ca e Fe em flores, folha e caule e *Alchemilla velebica* para quantificação de Li, Se, Sr, Cd, Pb, Cr, Mn, Co, Ni, Cu, Zn e Mo em folhas, flores e raízes.

Para os diferentes tipos de flores como *Matricaria chamomilla L.*, *Mentha piperita*, *Rosa canina L.*, *Hibiscus*, *Hyperici herba* e *Tilia* foram analisados os analitos em nível traço, tais como: as espécies voláteis de As (III) e As total por HG AAS e Pb, Cd, Co e Ni por ET AAS.

### **3.2 Técnicas quimiométricas para avaliar a composição mineral**

As técnicas multivariadas consideram um conjunto das amostras e variáveis, possibilitando extrair mais informações para otimização de um sistema químico e físico. Apresentam vantagens quando comparada com a técnica univariada, tais como: estudo simultâneo dos fatores e interações, melhora o rendimento do processo, diminuição do número de experimentos, menor gasto de reagentes, a

redução do tempo do processo e obtenção de maior quantidade de informações [74, 75].

A Quimiometria derivada do inglês “*chemometric*” está embasada nos conhecimentos interdisciplinares da estatística, matemática e química com auxílio de recursos da informática, com intuito de otimizar e avaliar o planejamento experimental, obtendo dados de um sistema químico que serão analisados e transformados em informações [76]. Alguns autores generalizam a divisão da Quimiometria em quatro vertentes: a) Planejamento fatorial; b) Análise exploratória de dados; c) Calibração multivariada d) Proposição de modelos de classificação [77].

Para otimização de métodos analíticos [78] realiza-se um planejamento fatorial completo que é considerado uma triagem inicial dos experimentos a ser realizado, analisando todas as combinações possíveis entre os níveis e os fatores para otimização de um sistema químico. A expressão  $n = 2^k$  possibilita saber a quantidade de experimento, sendo representados pelo nível mais baixo e o nível mais alto codificados pelos valores (-1) e (+1), respectivamente e o nível zero para o ponto central. A Tabela 4 mostra a matriz codificada para o conjunto de fatores envolvidos.

**Tabela 4.** Matriz codificada  $2^3$  para planejamento hipotético

Ensaio	Fator 1	Fator 2	Fator 3
1	-1	-1	-1
2	+1	-1	-1
3	-1	+1	-1
4	+1	+1	-1
5	-1	-1	+1
6	+1	-1	+1
7	-1	+1	+1
8	+1	+1	+1

A partir dos resultados do planejamento fatorial completo podem-se obter os efeitos significativos que influenciam no sistema químico. Em seguida, podendo gerar um gráfico de Pareto e a partir da análise do resultado, aplicar uma metodologia de superfície resposta como Matriz Doehlert (DM), Planejamento Box-Behnken (BBD) e Planejamento Compostos Centrais (CCD) para obter a condição ótima do método desenvolvido [78].

Dentre as técnicas, o planejamento fatorial completo é o mais utilizado, pois apresenta aplicabilidade na determinação da composição mineral em amostra de alimentos. Soylak *et al.* [79] realizaram um planejamento fatorial completo de dois níveis para otimização do procedimento de digestão ácida assistida por micro-ondas usando espectrometria de absorção atômica com chama (F AAS). Esta ferramenta quimiométrica permitiu a determinação de cobre, níquel e zinco em amostras de chá. Froes *et al.* [80] determinaram os microelementos em amostras de suco de frutas através da análise direta por ICP OES. O método foi otimizado pelo planejamento fatorial  $2^3$  que avaliou as condições experimentais do equipamento, com objetivo de amenizar a influência no sinal analítico provocado pelo efeito de matriz. Khajeh [81] desenvolveu um método de digestão assistida por micro-ondas em amostra de leite em pó para determinar cobre e zinco por F AAS, usando como estudo preliminar o planejamento fatorial completo de  $2^4$ , posteriormente aplicou o planejamento Box-Behnken para obtenção da condição otimizada. Souza *et al.* [82] aplicaram o planejamento  $2^2$  para extração de sete minerais em folhas de Braquiária detecção por F AAS, sendo as variáveis a massa da amostra e tipo de digestão (por via úmida ou por via seca). Com isso, verificou-se que a diminuição da massa não reduziu a eficiência do método na recuperação dos analitos.

Outro método estatístico multivariado é o reconhecimento de padrões não supervisionado, possibilitando a redução da representação dimensional dos dados, que pode ser organizado em uma estrutura que facilite a observação do conjunto de informações [83]. Foram desenvolvidos algoritmos para gerar gráficos que represente grande quantidade de dados analíticos. Estas ferramentas computacionais proporcionam que os resultados gerados pelas análises químicas possam ser explorados, verificando a existências de similaridade entre as amostras referente à composição química. Apresentado em duas vertentes bastante conhecidas na química analítica, destacam-se a análise de componentes principais (PCA) e a análise de agrupamento hierárquico (HCA) [84].

Em 1901, o PCA foi apresentado por Karl Pearson e 1930 por Hotelling na área da psicologia. Tem como finalidade a redução das dimensões no espaço original do conjunto de dados, ocasionado o estabelecimento de novas variáveis ortogonais entre si, sendo chamado de componentes principais (PCs), assim preservando a relação das variáveis entre as amostras [85]. Estes gráficos são

divido em: escores que indicam as relações de posição ocupada pelas amostras e pesos que expressam as relações entre as variáveis originais [86].

O HCA tem origem na taxonomia numérica desenvolvida por biólogos para estudar espécies, família e outros. Este procura organizar as amostras em classes, buscando agrupar pela igualdade e diferença de similaridade entre os membros participantes. É utilizado para reduzir um grande número de dados, possibilitando minimizar a dimensionalidade dos dados, com isto aumenta a homogeneidade interna dentro dos grupos e reduz a heterogeneidade entre grupos, permitindo detectar amostras de comportamento anômalo. O gráfico dos resultados obtidos tem formato de uma árvore hierárquica chamado de dendrograma, cujo comprimento dos ramos representa o grau de similaridade presente no objeto estudado [85]. Dentre os métodos disponíveis, o método de Ward é empregado para análise de variância avaliando as distâncias entre os grupos [87].

As técnicas multivariadas PCA e HCA são amplamente utilizadas na área de alimentos para avaliar e caracterizar os dados analíticos. Fadiga *et al.* [88] analisaram a composição mineral de couve coletadas no verão e no inverno e constataram através do PCA e HCA que a concentração dos macro e microelementos são mais elevadas no inverno. Santos *et al.* [89] empregaram PCA e HCA para determinação e avaliação da composição de elementos do repolho chinês, mostrando que P, Cu, Fe e Mn são os minerais que contribuem com maior variabilidade. Gong *et al.* [90] determinaram a concentração dos minerais em amostras de própolis, através da digestão micro-ondas empregando ICP OES, sendo aplicadas análises multivariadas que levou a formação de agrupamentos identificados pela cor e zona climática em diferentes regiões da China. Santos *et al.* [91] avaliaram a composição mineral do quiabo cru e cozido e na PCA e HCA demonstraram que K, P, Mg, Cu, Na e Zn contribuíram aumentando a variabilidade das cruas e cozidas, com uma diminuição para Ca. Foi observado também redução dos teores dos elementos citados durante o cozimento, provavelmente pela lixiviação para água do cozimento.

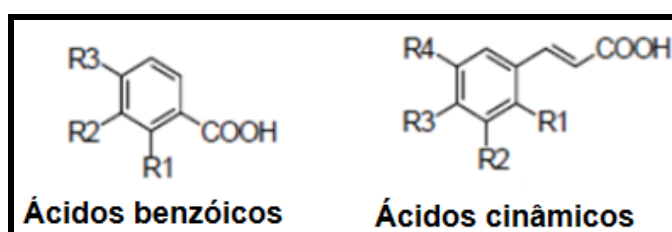
## 4. COMPOSTOS BIOATIVOS

Os compostos bioativos são substâncias com ação fisiológica e metabólica específica que beneficia a saúde humana, encontradas principalmente em alimentos de origem vegetal. Dentre os vários grupos de alimentos contendo as substâncias bioativas de fontes naturais que desempenham atividade antioxidante utilizados na nutrição humana, podem-se considerar hortaliças, legumes, verduras, folhas, cereais, frutas, flores e sementes tornando-se excelente fonte na dieta [92, 93]. No cenário científico destaca-se pelo elevado número de propriedades biofuncionais protetoras, tais como: antiinflamatórias, antialérgica, antioxidante, anticancerígena, antidiarréica, antitrombóticas, antibióticas, antifúngica, anti-úlceras, neuroprotetora e hipocolesterolêmica, visando contribuir na prevenção e tratamento de patologias crônico-degenerativas [94, 95].

Os compostos polifenólicos são denominados como substâncias que têm anéis aromáticos e substituintes hidroxílicos nas formas simples ou de polímeros, existindo cerca de oito mil variedades detectados em matriz vegetal apresentando atividades multifuncionalidade na saúde humana. Estes compostos contribuem para a composição dos metabólitos secundários promovendo o desenvolvimento das plantas, fornecendo subsídios para proteger o vegetal de patógenos e predadores. Desempenha função de atividade antioxidante para neutralização ou sequestro dos radicais livres e complexação de metais [13, 96].

As divisões dos compostos polifenólicos são ácidos fenólicos (ácido benzóico, ácido cinâmico e seus derivados), flavonóides (antocianina, flavonóis e seus derivados), ligninas, lignanas, taninos condensados e hidrolisáveis, estilbenos e curaminas [97]. No caso dos ácidos fenólicos apresentam estruturas químicas caracterizados por um anel benzênico, um grupo carboxílico e um ou mais grupo metoxila e/ou hidroxila (Figura 4) [98].

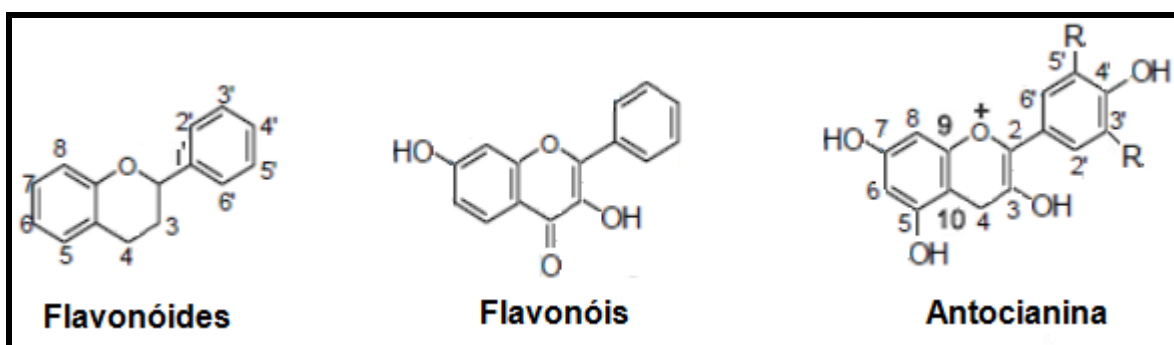
**Figura 4.** Exemplos de algumas estruturas químicas de ácidos fenólicos



Fonte: Adaptação de POMPEU, 2007 [99].

Os flavonóides apresentam um núcleo flavilum contendo três anéis fenólicos denominados de fenilcromanoma (C6-C3-C6), mostrados na Figura 5. A estrutura química destes compostos pode ser modificada através das substituições de hidroxilações, hidrogenação, malonilações, metilações, glicolisações e sulfatações [100].

**Figura 5.** Exemplos de estruturas químicas dos flavonóides



Fonte: Adaptação de POMPEU, 2007 e RAMOS *et al.*, 2006 [99, 101].

Uma das técnicas para analisar o teor de compostos bioativos, por exemplo fenólicos totais e flavonóides totais, é a espectrofotometria de absorção no ultravioleta visível (UV-VIS), sendo fundamentada nas transições intra-atômicas ou moleculares, absorvendo ou emitindo a radiação luminosa nos comprimentos de onda 200 a 800 nm, obedecendo à lei de Lambert-Beer, para determinação de espécies inorgânica e orgânica [64, 102]. Esta técnica oferece vantagens como baixo custo operacional, robustez e simplicidade na interpretação dos resultados. Várias aplicações foram desenvolvidas para quantificar os teores de fenólicos totais e flavonóides totais em vegetais usando o espectrofotômetro UV-VIS em comprimentos de onda específicos para cada tipo de substância bioativa [103, 104].

## 5. OBJETIVOS

### 5.1 Objetivo geral

Determinar a composição mineral e os compostos bioativos em pétalas de rosas (*Rosa spp.*).

### 5.2 Objetivos específicos

- Utilizar estratégias de otimização multivariada como planejamento fatorial completo  $2^3$  para procedimento de abertura em amostras de pétalas de rosa.
- Otimizar o método analítico que possibilite a determinação da composição mineral em pétalas de diferentes espécies de rosa.
- Validar o método desenvolvido através das figuras de méritos (precisão, exatidão, linearidade, faixa dinâmica linear, limites de detecção e quantificação) para comprovar a aplicabilidade à matriz.
- Determinar os teores de cálcio (Ca), potássio (K), sódio (Na), fósforo (P), magnésio (Mg), cobre (Cu), ferro (Fe), manganês (Mn) e zinco (Zn) em amostras de pétalas de rosa cultivadas na fazenda da cidade de Itiruçu no estado da Bahia.
- Avaliar a composição dos micro e macroelementos das pétalas de rosa quanto aos valores diários recomendados ( $\text{mg } 100 \text{ g}^{-1}$  da amostra *in natura*).
- Contribuir para a tabela de composição de alimentos para este tipo de matriz.
- Aplicar Análise de Componentes Principais (PCA) e Análise de Componentes Hierárquicos (HCA) para avaliar a composição nutricional em pétalas de rosas de 10 variedades.
- Analisar o teor de compostos bioativos como os fenólicos totais e flavonóides totais em pétalas de rosas.

## 6. PROCEDIMENTO EXPERIMENTAL

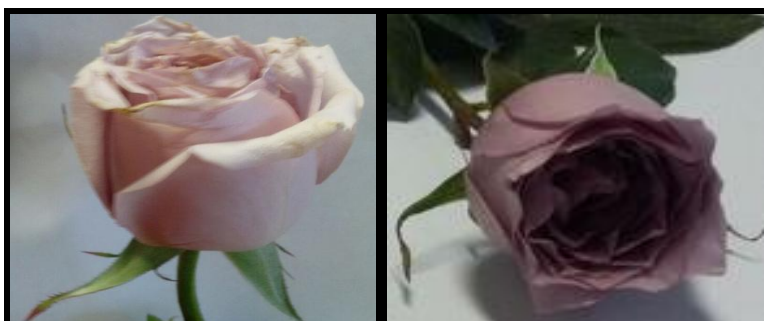
### 6.1 Amostragem

Amostras de 10 variedades de rosas (*Rosa spp.*) sem adição de defensivo agrícola foram obtidas na fazenda da cidade de Itiruçu localizada no Sudoeste da Bahia durante o período de verão (18 a 28 °C) e inverno (15 a 23 °C) [105]. As amostras estão identificadas na Figura 6.

**Figura 6.** Informe geral sobre as variedades estudadas das *Rosa spp.*



Nome comum: rosa branca  
Coloração: branca  
Sigla de identificação: **RB**



Nome comum: rosa lilás  
Coloração: lilás  
Sigla de identificação: **RL**



Nome comum: rosa vermelha  
Coloração: vermelha  
Sigla de identificação: **RV**



Nome comum: rosa amarela  
Coloração: amarela  
Sigla de identificação: **RA**





Nome comum: rosa greta

Coloração: laranja

Sigla de identificação: **RLA**



Nome comum: rosa *pink*

Coloração: rosa forte

Sigla de identificação: **RPi**



Nome comum: rosa

Coloração: rosa por fora e vermelha por dentro da pétala

Sigla de identificação: **RRV**



Nome comum: rosa ambiance

Coloração: amarela com a ponta rosa

Sigla de identificação: **RAPR**



Nome comum: rosa

Coloração: amarela e ponta vermelha por fora e laranja por dentro da pétala

Sigla de identificação: **RAVLA**



Nome comum: rosa

Coloração: amarela e ponta vermelha da pétala

Sigla de identificação: **RAPV**

Fonte: Autora da dissertação

## 6.2 Determinação macro e micro elementos por ICP OES

### 6.2.1 Reagentes e soluções

No procedimento de digestão foram utilizados ácido nítrico concentrado,  $\text{HNO}_3$  65% v/v (*Merck, Germany*), purificado com destilador de ácidos (*Milestone, sub-boiling distillation*), ácido sulfúrico concentrado,  $\text{H}_2\text{SO}_4$  97% v/v (*Merck, Germany*), peróxido de hidrogênio,  $\text{H}_2\text{O}_2$  30% v/v (*Merck, Germany*) e água ultra-pura, com resistividade específica de  $18,2 \text{ M}\Omega\text{cm}^{-1}$  de um sistema de purificação Mili-Q® (*Milipore, Bedford, MA, USA*).

A curva de calibração preparada com as soluções padrão dos seguintes analitos: Ca, Cu, Fe, K, Mg, Mn, Na, P e Zn contendo de 1000 à 4000  $\text{mg L}^{-1}$  da solução estoque (*Merck, Darmstadt, Germany*). Para determinar o teor de carbono residual uma solução estoque de 20000  $\text{mg L}^{-1}$  em carbono a partir do ácido cítrico m/m (*Merck, Germany*).

Para validação do método materiais de referência certificados (SRM) de folhas de maçã (1515), folhas de espinafre (1570a) e folhas de pêssego (1547), adquiridos do National Institute of Standard and Technology (*Gaithersburg, MD, USA*).

### 6.2.2 Pré-tratamento das amostras

Após coleta, o procedimento com as amostras de rosas foi retirar e descartar as pétalas mais externas de cada haste, devido à exposição maior com partículas

sólidas presentes na atmosfera. Posteriormente, despetaladas manualmente e cortadas sobre prato e faca de plástico para evitar contaminações por metais. Em seguida, homogeneizadas e quarteadas.

A vidraria e os materiais utilizados nas etapas da análise lavados com água corrente, detergente (EXTRAN) e água desionizada, após descontaminados em banho de ácido nítrico ( $\text{HNO}_3$ ) a 10% v/v, por 24 h. Por último, os lavados com água ultrapura e secos à temperatura ambiente.

### 6.2.3 Equipamentos e acessórios

Na pesagem das amostras utilizada a balança analítica SARTORIUS, modelo BLD105. O bloco digestor TECNAL, modelo TE-040/25 utilizado na digestão da amostra. A determinação de Ca, Cu, Fe, Mg, Mn, P e Zn nas amostras digeridas foi realizada por espectrômetro de emissão ótica com plasma indutivamente acoplado da VARIAN, modelo VISTA PRO. Os parâmetros instrumentais do ICP OES e as linhas de emissão para cada analito estão listados na Tabela 5.

**Tabela 5.** Parâmetros instrumentais do ICP OES

Parâmetros Instrumentais	Valor/especificação	
Potência da RF (kW)	1,0	
Detector	CCD	
Câmara de nebulização	Sturman-Masters	
Nebulizador	Ranhura em V (V-Groove)	
Vazão do gás do plasma ( $\text{L min}^{-1}$ )	15,0	
Vazão do gás auxiliar ( $\text{L min}^{-1}$ )	1,5	
Pressão do nebulização (kPa)	200	
Tempo de leitura das replicatas (s)	1,0	
Tempo de estabilização do instrumento (s)	15	
Rotação bomba (rpm)	15	
Linhas espectrais selecionadas (nm)	Ca (II) 422,673	Mn (II) 257,610
	Cu (II) 324,754	Na (I) 589,592
	Fe (II) 259,940	P (I) 177,434
	K (II) 404,721	Zn (II) 213,857
	Mg(II) 285,213	

I - Linha atômica; II - Linha atômica.

#### 6.2.4 Procedimento de digestão com a validação do método proposto

Aplicou-se o planejamento fatorial completo de  $2^3$  para o estudo das variáveis referentes aos volumes de  $\text{HNO}_3$ ,  $\text{H}_2\text{SO}_4$  e  $\text{H}_2\text{O}_2$ , apresentando domínio experimental em mL de (1,5 a 2,5); (0,5 a 1,5) e (0,2 a 0,8), respectivamente, conforme Tabela 6. No procedimento de digestão, a condição otimizada com cerca de 1 g de amostra *in natura* em triplicata foi adicionada em tubo cônico utilizando bloco digestor com auxílio do “dedo frio” para sistema de refluxo. Em seguida adicionados 2,5 mL de ácido nítrico concentrado submetendo ao aquecimento a 120 °C por 1h30min. Acrescentou-se 0,5 mL de ácido sulfúrico concentrado a 185 °C por 1h30min. Posteriormente, duas adições de 0,1 mL de peróxido de hidrogênio a cada 30 min. Subsequentemente, os digeridos foram transferidos quantitativamente para tubos falcon e diluídos para 12 mL com água ultrapura. A curva analítica preparada em meio ácido ( $\text{HNO}_3$  e  $\text{H}_2\text{SO}_4$ ) na mesma concentração dos digeridos. A determinação multielementar dos digeridos e padrões realizada utilizando o espectrômetro de emissão óptica com plasma indutivamente acoplado (ICP OES).

A exatidão do procedimento proposto foi determinada mediante análise do materiais de referência certificados do NIST (National institute of Standards & Technology) de folhas de maçã (1515), folhas de espinafre (1570a) e folhas de pêssigo (1547). A digestão dos materiais certificados foi realizada pelo mesmo procedimento das amostras de pétalas de rosas. A precisão foi estimada através dos sete ensaios da digestão de pétalas de rosa *in natura* pelo método desenvolvido, calculado através do desvio padrão relativo (RSD). Outros parâmetros analíticos também foram avaliados como limites de detecção (LD), quantificação (LQ), linearidade e faixa dinâmica linear para a etapa de validação.

#### 6.2.5 Determinação da acidez e carbono residual dos digeridos

A acidez final foi determinada através da titulação ácido-base dos digeridos. O teor de carbono residual das amostras digeridas foi quantificado por ICP OES, no qual utilizou-se uma solução de ácido cítrico com a concentração de 20000 mg L<sup>-1</sup> para o elemento C.

### 6.2.6 Análise Quimiométrica

Os resultados alcançados na determinação elementar para as amostras de pétalas de rosas *in natura* foram averiguados e analisados pelas ferramentas quimiométricas: Planejamento Fatorial Completo 2<sup>3</sup>, Análise de Componentes Principais (PCA) e Análise Hierárquica de Agrupamento de Dados (HCA), através do programa *StatSoft Statistic versão 10.0*.

## 6.3 Determinação do teor de umidade

O teor de umidade foi determinado através do método de secagem em estufa, à temperatura de 105 °C até peso constante [106]. Inicialmente pesou-se quinze béqueres que foram submetidos ao aquecimento durante 1 hora, à temperatura 105 °C. Em seguida, os mesmos foram colocados em dessecador durante 20 minutos e pesadas novamente. Esta operação de aquecimento e resfriamento realizada até a obtenção de peso constante. Utilizaram-se os béqueres anteriores para pesar 5 g da amostra de rosa *in natura* das seguintes variedades de cores: branca (RB), vermelha (RV), amarela (RA), amarela com a ponta rosa (RAPR) e laranja (RLA), realizado em triplicata.

O teor de umidade calculado pela diferença entre as massas inicial e massa constante, segundo a equação:

$$\text{Umidade \%} = \frac{\text{perda de massa}}{m_{\text{inicial}}} \times 100 \quad (1)$$

## 6.4 Determinação de compostos bioativos por espectrofotometria UV-VIS

### 6.4.1 Reagentes e soluções

Para o procedimento de determinação de fenólicos totais (TPC): metanol, CH<sub>3</sub>OH 99,8% v/v (Vetec, Brasil), carbonato de sódio anidro, Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> 99,5% m/m (Química Moderna, Brasil), água-ultrapura com resistividade específica de 18,2 MΩcm<sup>-1</sup> de um sistema de purificação Mili-Q<sup>®</sup> (*Milipore, Bedford, MA, USA*),

reagente de Folin-Denis, (Merck, Alemanha), para a curva de calibração com ácido gálico,  $C_6H_2(OH)_3COOH$  (Sigma-Aldrich, EUA) contendo concentrações de 0,1 à 20 mg L<sup>-1</sup> da solução estoque.

Para o procedimento de determinação de flavónois totais (TF): metanol, 99,8% v/v (Vetec, Brasil), cloreto de alumínio,  $AlCl_3$  99,0% m/m (Synth, Brasil), para a curva de calibração de quercetina,  $C_{15}H_{10}O_7$  (Sigma-Aldrich, EUA) na faixa de concentração de 1,2 à 20 mg L<sup>-1</sup> da solução estoque.

#### 6.4.2 Equipamentos e acessórios

Para a secagem e pesagem das amostras: o liofilizador LIOTOP, modelo K202 e balança analítica SARTORIUS, modelo ALC/210.4. O aquecimento realizado em banho-maria da TECNAL, modelo TE-O54mag. A agitação dos tubos falcon realizada em mesa agitadora QUIMIS MICROPROCESSADA, modelo 0225M. A determinação dos compostos bioativos com espectrofotômetro UV-VIS da BIOSPECTRO, modelo SP-22.

#### 6.4.3 Pré-tratamento das amostras

A coleta das cinco variedades de rosas (branca (RB), vermelha (RV), amarela (RA), laranja (RLA) e amarela com a ponta rosa (RAPR)) ocorreu durante verão e inverno. As rosas foram despetaladas manualmente até a haste, havendo o descarte das pétalas mais externas. Em seguida, acondicionadas em sacos plásticos e levadas ao freezer por dois dias, posteriormente liofilizadas por três dias. A moagem realizada com liquidificador doméstico com lâminas de metal [107, 108], sendo acondicionadas em recipientes plásticos e guardadas em dessecador até o momento da análise.

#### 6.4.4 Determinação do teor de fenólicos totais (TPC)

Para determinação do teor de fenólicos totais, adotado procedimento proposto por Singleton e Rossi [109] com adaptações de Araújo *et al.* [110]. Utilizou-se 0,15 g da amostra liofilizada submetida à extração com 30 mL de metanol com agitação por 5 min. De cada extrato retirada uma alíquota de 1,0 mL transferida para o balão

volumétrico de 25 mL. Em seguida adicionou-se 2,5 mL do reagente de Folin-Denis, 2,0 mL de 7,5% m/v de solução carbonato de sódio e avolumou-se com água ultra-pura. O material colocado em banho-maria a 50 °C por 1h, depois resfriado à temperatura ambiente e a leitura da absorvância a 760 nm no espectrofotômetro UV-VIS. O TPC medido utilizando a ácido gálico como padrão e expresso como mg de ácido gálico por 100 g de amostra seca ( $\text{mg}_{\text{GAE}} 100 \text{ g}^{-1}$ ). O reagente de Folin-Denis é preparado através da adição de 20 g de tungstato de sódio, 4 g de ácido fosfomolibdico e 10 mL de ácido fosfórico em 150 mL de água destilada, no qual a solução foi levada a refluxo. Após 2 h, a solução foi resfriada à temperatura ambiente e diluída em balão volumétrico de 200 mL.

Os resultados foram convertidos de base seca para base úmida.

#### 6.4.5 Determinação do teor de flavonóides totais (TF)

Para determinação do teor de flavonóides totais, seguiu-se o procedimento proposto por Woisky e Salatino [111] com algumas adaptações de Fan *et al.* [112]: cerca de 0,5 g da amostra liofilizada submetida à extração com 30 mL de metanol com agitação por 5 min. Para cada extrato retirada uma alíquota de 1,5 mL do sobrenadante e adicionou-se 3,0 mL de 2% m/v de solução de  $\text{AlCl}_3$  em metanol avolumando para 10 mL com metanol. Após 30 min realizada a leitura da absorvância a 420 nm no espectrofotômetro UV-VIS. O conteúdo de TF calculado por equivalentes de quercetina e expressos como miligramas de quercetina por 100 g de amostra seca ( $\text{mg}_{\text{QE}} 100 \text{ g}^{-1}$ ). Depois os resultados foram convertidos de base seca para base úmida.

## 7. RESULTADOS E DISCUSSÕES

### 7.1 Otimização do método de digestão ácida

Para otimização, foram coletadas 10 variedades de rosas sem defensivos agrícolas de forma aleatória para manter a homogeneidade das amostras na fazenda em Itiruçu na Bahia, garantindo que as espécies eram as mesmas nos períodos investigados. A abertura da amostra realizada por via úmida no bloco digestor com auxílio do “dedo frio” [113,114]. Inicialmente, realizou-se um teste inicial variando a massa de 1 a 3 g da rosa branca *in natura* com mistura oxidativa ( $\text{HNO}_3$ ,  $\text{H}_2\text{O}$  e  $\text{H}_2\text{O}_2$ ) percebendo visualmente que a digestão era incompleta, isto devido formação da mistura azeotrópica ( $\text{HNO}_3$  e  $\text{H}_2\text{O}$ ) aproximadamente a 121 °C, que pode não ser eficiente para a quebrar das ligações dos compostos orgânicos. Foi possível observar que ao reduzir a massa da amostra ocorreu uma diminuição do tempo de digestão, estabelecendo assim a massa para digestão em 1 g como adequado para o estudo.

A partir desta observação fez-se outro teste utilizando mistura ácido nítrico / ácido sulfúrico / peróxido de hidrogênio, onde observou a mineralização completa da amostra no aspecto visual. Este fato pode ser explicado através da adição do ácido sulfúrico permitindo a execução da digestão em temperatura elevada, neste caso a 185 °C, possibilitando a decomposição dos compostos orgânicos presentes nesta matriz [113]. Aplicou-se um planejamento fatorial completo de  $2^3$  para avaliar o efeito principal e de interações das variáveis como:  $\text{HNO}_3$  (mL),  $\text{H}_2\text{SO}_4$  (mL) e  $\text{H}_2\text{O}_2$  (mL) no processo de digestão ácida [115], mostrado no domínio experimental Tabela 6.

**Tabela 6.** Fatores e níveis da otimização experimental

Fatores	(-1)	(0)	(+1)
Volume de $\text{HNO}_3$ (mL)	1,5	2	2,5
Volume de $\text{H}_2\text{SO}_4$ (mL)	0,5	1,0	1,5
Volume de $\text{H}_2\text{O}_2$ (mL)	0,2	0,5	0,8

A matriz experimental com valores reais e codificados representados na Tabela 7, cujos ensaios executados em ordem aleatória para avaliar o nível de



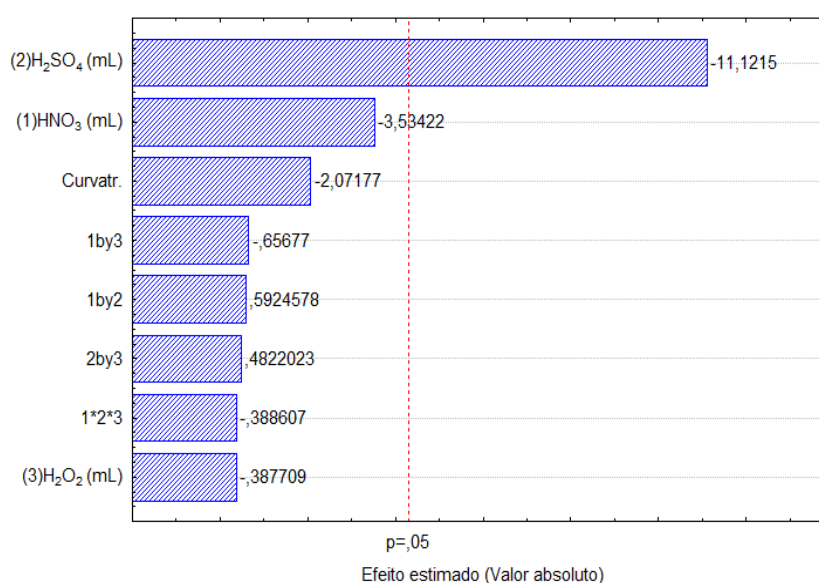
significância dos fatores. A intensidade do sinal emitido por todos os elementos foi normalizada e o somatório desses valores utilizado como resposta múltipla (RM).

**Tabela 7.** Matriz do planejamento fatorial completo  $2^3$  com resposta múltipla

Experimento	HNO <sub>3</sub> (mL)	H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> (mL)	H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> (mL)	RM
1	+1 (2,5)	+1 (1,5)	0,8 (+1)	2,85
2	+1 (2,5)	+1 (1,5)	-1 (0,2)	3,23
3	+1 (2,5)	-1 (0,5)	+1 (0,8)	7,00
4	+1 (2,5)	-1 (0,5)	-1 (0,2)	7,45
5	-1 (1,5)	+1 (1,5)	+1 (0,8)	4,44
6	-1 (1,5)	+1 (1,5)	-1 (0,2)	3,98
7	-1 (1,5)	-1 (0,5)	+1 (0,8)	8,75
8	-1 (1,5)	-1 (0,5)	-1 (0,2)	8,99
9	0 (2,0)	0 (1,0)	0 (0,5)	4,65
10	0 (2,0)	0 (1,0)	0 (0,5)	4,80
11	0 (2,0)	0 (1,0)	0 (0,5)	5,69

A análise estatística dos dados foi tratada utilizando o programa *Stat Soft Statistic version 10.0*. A Figura 7 representa o gráfico de Pareto para analisar o planejamento fatorial completo.

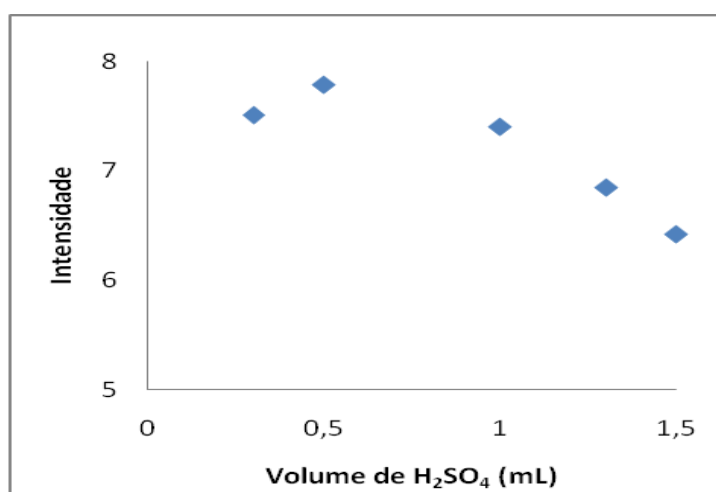
**Figura 7.** Gráfico de Pareto



A partir do gráfico de Pareto verificou-se que somente o volume de H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>, foi significativo dentre as variáveis estudadas, apresentou um efeito negativo para 95%

de confiança. Como os volumes  $\text{HNO}_3$  e  $\text{H}_2\text{O}_2$  e as interações estão abaixo de 95% de confiança não aplicou-se a metodologia de superfície de resposta, devido apresentar apenas um fator significativo; neste caso, o volume do  $\text{H}_2\text{SO}_4$  é variável principal. Diante disso, um estudo univariado do volume de  $\text{H}_2\text{SO}_4$  normalizou a intensidade do sinal dos analitos representada na Figura 8.

**Figura 8.** Estudo univariado do volume de  $\text{H}_2\text{SO}_4$



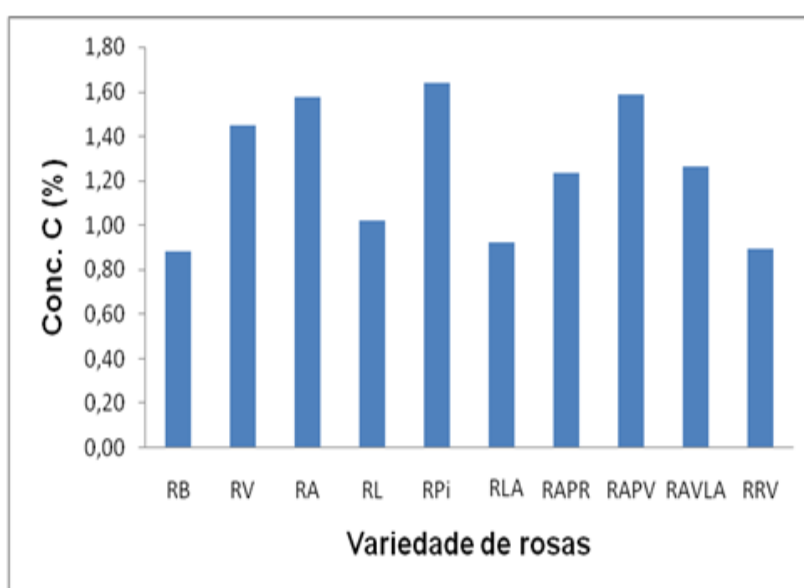
Pode-se observar que quanto maior o volume do ácido sulfúrico, menor o sinal analítico obtido, o que pode ser devido a sua viscosidade [116, 117] interferindo no processo de nebulização dos digeridos, diminuindo a quantidade de material transferido para o plasma durante a medição, comprovando o gráfico de Pareto. Como a condição de mínimo do planejamento apresentou melhor digestão na rosa branca, ao ser aplicado nas demais rosas coloridas observou-se visualmente que a digestão era incompleta. Este fato pode estar relacionado com os tipos de compostos orgânicos presentes na pigmentação das pétalas. Desse modo, aumentar o volume do ácido nítrico para 2,5 mL foi a alternativa para uma digestão completa para as rosas coloridas.

Dessa maneira, as condições otimizadas do método proposto foram: 1 g da amostra, 2,5 mL de  $\text{HNO}_3$  concentrado; 0,5 mL de  $\text{H}_2\text{SO}_4$  concentrado e 0,2 mL de  $\text{H}_2\text{O}_2$ . Para determinação da acidez residual do método realizou-se titulação ácido-base na solução digerida e o valor de  $3,2 \text{ mol L}^{-1}$  foi menor quando comparado ao recomendado pelo fabricante do equipamento. Assim, como a acidez estava

baixa não adotou-se a diluição das amostras e procedeu-se as medidas as concentrações dos analitos.

Para avaliar a eficiência do procedimento de digestão ácida nas amostras realizou-se a determinação do teor de carbono residual (%RCC), empregando o ICP OES e linha de emissão atômica de carbono de 247,856 nm mostrado na Figura 9.

**Figura 9.** Carbono residual nas soluções resultantes da condição otimizada das variedades de rosas



**RB:** Rosa branca, **RV:** Rosa vermelha, **RA:** Rosa amarela, **RL:** Rosa lilás, **RPi:** Rosa *pink*, **RLA:** Rosa laranja, **RAPR:** Rosa amarela com a ponta rosa, **RAPV:** Rosa amarela com ponta vermelha, **RAVLA:** Rosa amarela e ponta vermelha por fora e laranja por dentro, **RRV:** Rosa por fora e vermelha por dentro.

Os teores de carbono residual para as 10 variedades de pétalas de rosas tiveram a variação entre 0,88 a 1,64% (m/m), demonstrando adequados para as condições investigadas. De acordo com Nóbrega *et al.* [118], as concentrações de carbono residual de até 13% não provocam interferência nas determinações dos minerais por ICP OES para as amostras de plantas no processo de digestão em microondas. Assim, os teores encontrados sugerem uma boa eficiência de decomposição para todas as amostras.

## 7.2 Estudo de validação

As figuras de mérito avaliadas para o método proposto foram: a linearidade, a faixa dinâmica linear, o limite de detecção (LD), o limite de quantificação (LQ), a precisão e a exatidão. A linearidade foi analisada pelos resultados obtidos a partir dos coeficientes de correlações iguais e superiores a 0,9990, conforme recomendações da IUPAC. Na Tabela 8 estão representadas as figuras de mérito determinados para cada elemento, conforme as recomendações da IUPAC [119].

**Tabela 8.** Figuras de mérito em amostras de rosas

Elementos	R <sup>2</sup>	Faixa dinâmica linear (mg kg <sup>-1</sup> )	Parâmetros analíticos		
			LD (mg kg <sup>-1</sup> )	LQ (mg kg <sup>-1</sup> )	RSD % (n = 7)
<b>Ca</b>	0,9990	7,02 - 700	2,11	7,02	3,33
<b>K</b>	0,9994	51,70 - 4000	15,51	51,70	2,06
<b>Mg</b>	0,9996	0,12 - 400	0,04	0,12	4,03
<b>P</b>	0,9996	1,19 - 800	0,36	1,19	2,53
<b>Cu</b>	0,9990	0,08 - 2	0,02	0,08	2,80
<b>Fe</b>	0,9990	0,74 - 10	0,22	0,74	1,26
<b>Mn</b>	0,9999	0,02 - 8	0,01	0,02	3,05
<b>Zn</b>	0,9995	0,79 - 8	0,24	0,79	3,99

Para obtenção dos valores de LD e LQ expressos em mg kg<sup>-1</sup>, procedeu-se a partir da análise de 10 brancos submetidos ao mesmo procedimento de abertura da amostra. As equações utilizadas **LD = (3xs)/α** e **LQ = (10xs)/α**, sendo **s** o desvio padrão das 10 medidas do branco e **α** a inclinação da curva analítica. Somente o sódio ficou com a concentração abaixo do limite de detecção de 2,65 mg kg<sup>-1</sup> para o método proposto. O desvio padrão relativo (RSD) estimado para os macroatomitos (Ca, Mg e P) inferior a 5% e microatomitos (Cu, Fe, Mn e Zn) inferior a 4%, o que evidencia maior precisão da digestão em termos de repetibilidade.

A exatidão do método verificada usando três materiais de referência certificados (CRM) de origem vegetal: *SRM 1515, Apple Leaves* (folha de maçã); *SRM 1547, Peach Leaves* (folha de pêssigo) e *SRM 1570a, Spinach Leaves* (folha de espinafre), está representada na Tabela 9. Devido a inexistência de CRM para a matriz estudada optou-se por CRM de folhas, uma vez que as pétalas se constituem

em uma matriz semelhante e segundo Raven [31] as flores são consideradas folhas modificadas. Cerca de 0,2 g de CRM e submetidos ao mesmo procedimento de digestão ácida das amostras de pétalas de rosa.

**Tabela 9.** Determinação de elementos em material de referência certificado SRM 1515, SRM 1547 e SRM 1570a por ICP OES

Elemento	Valor certificado	Valor encontrado	Percentual de recuperação
<b><i>Apple Leaves (SRM 1515)</i></b>			
Ca (%)	1,527 ± 0,041	1,553 ± 0,155	102
K (%)	1,61 ± 0,02	1,62 ± 0,002	101
Mg (%)	0,271 ± 0,008	0,276 ± 0,005	102
Fe (µg g <sup>-1</sup> )	80	78 ± 3,7	97,5
Mn (µg g <sup>-1</sup> )	54 ± 3	54 ± 1	100
Zn (µg g <sup>-1</sup> )	12,5 ± 0,3	12,4 ± 0,4	99,2
<b><i>Peach Leaves (SRM 1547)</i></b>			
Cu (µg g <sup>-1</sup> )	3,7 ± 0,4	3,4 ± 0,3	91,9
Na (µg g <sup>-1</sup> )	24 ± 2	24 ± 1	100
<b><i>Spinach Leaves (SRM 1570a)</i></b>			
P (%)	0,518 ± 0,011	0,519 ± 0,014	100

Aplicou-se o teste t de *Student* a 95% para verificar se há diferença significativa entre o valor encontrado e o valor certificado. Os valores  $t_{\text{calculado}}$  foram sempre menores do que  $t_{\text{tabelado}}$ . Sendo assim, não houve diferença significativa entre as médias das concentrações dos elementos estudados, comprovando a exatidão do método. Os valores encontrados para o percentual de recuperação dos elementos dos três CRM na faixa de 91,9 a 102 mostram a eficiência do procedimento.

### 7.3 Avaliação da concentração elementar em amostras de pétalas de rosas

Os resultados de concentrações de Ca, K, Mg, P, Cu, Fe, Mn e Zn obtidos foram expressos em  $\text{mg kg}^{-1}$  de amostra de pétalas de rosa. Na Tabela 10, estão contemplados as concentrações médias de cada analito em triplicatas e seus respectivos valores de desvio padrão.

**Tabela 10.** Médias de concentrações da composição mineral das amostras pétalas de rosas (expressos em  $\text{mg kg}^{-1}$ ) coletadas no verão e inverno

Amostras	Elementos						
	Ca	Mg	P	Cu	Fe	Mn	Zn
<b>Verão</b>							
RA	176 ± 13	371 ± 5	490 ± 18	1,59 ± 0,05	8,05 ± 0,40	4,15 ± 0,15	3,61 ± 0,15
RL	235 ± 22	310 ± 9	322 ± 5	1,67 ± 0,02	7,44 ± 0,45	2,77 ± 0,07	3,21 ± 0,13
RAVLA	172 ± 7	291 ± 3	344 ± 7	1,64 ± 0,12	6,62 ± 0,10	3,75 ± 0,07	2,87 ± 0,03
RV	186 ± 16	367 ± 3	492 ± 6	2,42 ± 0,15	9,57 ± 0,10	4,56 ± 0,10	4,25 ± 0,06
RLA	223 ± 8	291 ± 7	456 ± 21	1,21 ± 0,07	8,74 ± 0,06	3,27 ± 0,10	3,71 ± 0,22
RB	156 ± 16	318 ± 12	436 ± 15	1,58 ± 0,12	6,90 ± 0,60	2,77 ± 0,15	3,31 ± 0,20
RAPR	230 ± 12	307 ± 3	392 ± 2	1,12 ± 0,06	5,24 ± 0,25	4,45 ± 0,20	2,18 ± 0,02
RRV	169 ± 55	322 ± 38	492 ± 18	1,10 ± 0,07	6,83 ± 0,65	3,38 ± 0,50	3,43 ± 0,45
RAPV	291 ± 14	368 ± 11	534 ± 29	2,24 ± 0,06	7,92 ± 0,55	4,68 ± 0,07	3,47 ± 0,15
RPI	301 ± 48	421 ± 21	633 ± 24	1,53 ± 0,10	9,44 ± 0,30	4,53 ± 2,35	4,34 ± 0,23
<b>Inverno</b>							
RA	57,5 ± 2,7	244 ± 13	334 ± 7	0,73 ± 0,04	3,68 ± 0,23	21,2 ± 0,85	1,02 ± 0,03
RL	65,7 ± 3,2	223 ± 11	275 ± 7	0,73 ± 0,02	3,52 ± 0,20	18,6 ± 0,30	0,89 ± 0,05
RAVLA	88,6 ± 3,9	230 ± 10	277 ± 8	0,67 ± 0,06	3,27 ± 0,20	25,2 ± 0,90	1,21 ± 0,06
RV	81,3 ± 5,6	275 ± 12	417 ± 16	0,92 ± 0,04	4,90 ± 0,25	24,1 ± 1,75	1,80 ± 0,15
RLA							

**RA:** Rosa amarela, **RL:** Rosa lilás, **RAVLA:** Rosa amarela e ponta vermelha por fora e laranja por dentro, **RV:** Rosa vermelha, **RLA:** Rosa laranja, **RB:** Rosa branca, **RAPR:** Rosa amarela com a ponta rosa, **RRV:** Rosa por fora e vermelha por dentro, **RAPV:** Rosa amarela com ponta vermelha, **RPI:** Rosa *pink*.

## 7.4 Tratamento de dados por análise multivariada

A análise multivariada foi utilizada para avaliar as concentrações dos elementos em dez variedades de pétalas de rosas. Os resultados foram avaliados por PCA e HCA usando o programa *Statistic 10.0*. Para execução do programa uma matriz de dados (7 x 60) foi elaborada onde as informações dispostas em linhas para as amostras e colunas para as variáveis.

Os dados foram previamente auto-escalados da Tabela 10, porque as concentrações de elementos têm diferentes ordens de grandeza. As duas primeiras componentes principais totalizam 88,5 % da variância total, como mostra a Tabela 11. As variáveis dominantes para a primeira componente principal (PC1) Ca, P, Mg, Zn, Cu e Fe, representam 81,66 % da variância total. Estes seis elementos contribuíram para maior parte da variabilidade entre as amostras e são positivamente correlacionadas na PC1. A segunda componente principal (PC2) responsável apenas por 6,88 % da variância total e o Mn variável dominante.

**Tabela 11.** Pesos das variáveis para as três primeiras componentes principais

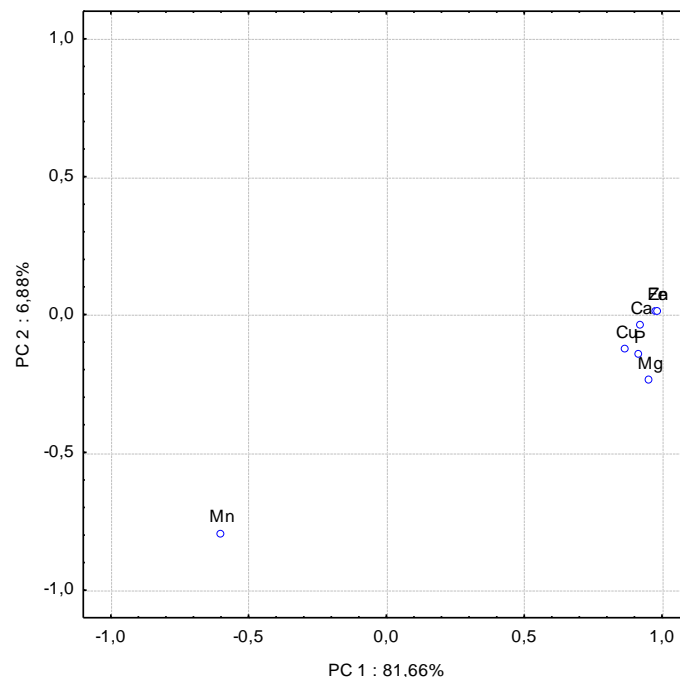
<b>Elementos</b>	<b>PC1</b>	<b>PC2</b>	<b>PC3</b>
Ca	0,921480	-0,032419	-0,077391
Cu	0,798524	-0,107254	0,587791
Fe	0,980332	-0,012575	0,003426
Mg	0,935386	0,245232	0,018586
Mn	-0,815838	0,507839	0,224095
P	0,886885	0,387043	-0,157368
Zn	0,970037	-0,031431	-0,099381
<b>Total variance (%)</b>	81,65558	6,87917	6,23863
<b>Cumulative variance (%)</b>	81,6556	88,5348	94,7734

A Figura 10 mostra a separação entre as amostras, coletadas no verão e no inverno. Essa separação foi devida às maiores concentrações de Ca, P, Mg, Zn, Cu e Fe, em todas as amostras coletadas no verão, com valores positivos na PC1. Somente para o Mn observou-se um comportamento anômalo, onde na PC1 teve valor negativo, sendo o único elemento que obteve maior quantidade no inverno do que no verão. Conforme pode ser comprovado na Tabela 11, as maiores concentrações dos elementos no verão deve-se ao fato das condições hídricas e de

temperatura serem mais adequadas. Com a diminuição da ocorrência de chuvas neste período evitando a lixiviação dos nutrientes presentes no solo, ocorrendo mais facilmente a absorção de minerais pelas raízes. Outro fator é a temperatura que influencia no metabolismo por meio das velocidades das reações químicas e participação de muitas atividades enzimáticas, as quais favorecem o crescimento das plantas [120, 121].

No caso do manganês, que dentre os metais analisados, apresenta maior concentração no período de inverno, pode-se explicar este fenômeno pela associação com a decomposição da matéria orgânica causada pelo aumento da atividade microbiana em solos encharcados para condição anaeróbica ou pouco arejados em microsítios, proporcionando uma redução do  $Mn^{+3}$  para  $Mn^{+2}$  presentes na forma orgânica solúvel, facilitando assim a absorção  $Mn^{+2}$  pelas raízes das plantas [122, 123].

**Figura 10.** Gráfico de peso PC1 x PC2 para as amostras de pétalas de rosa no período de verão e inverno



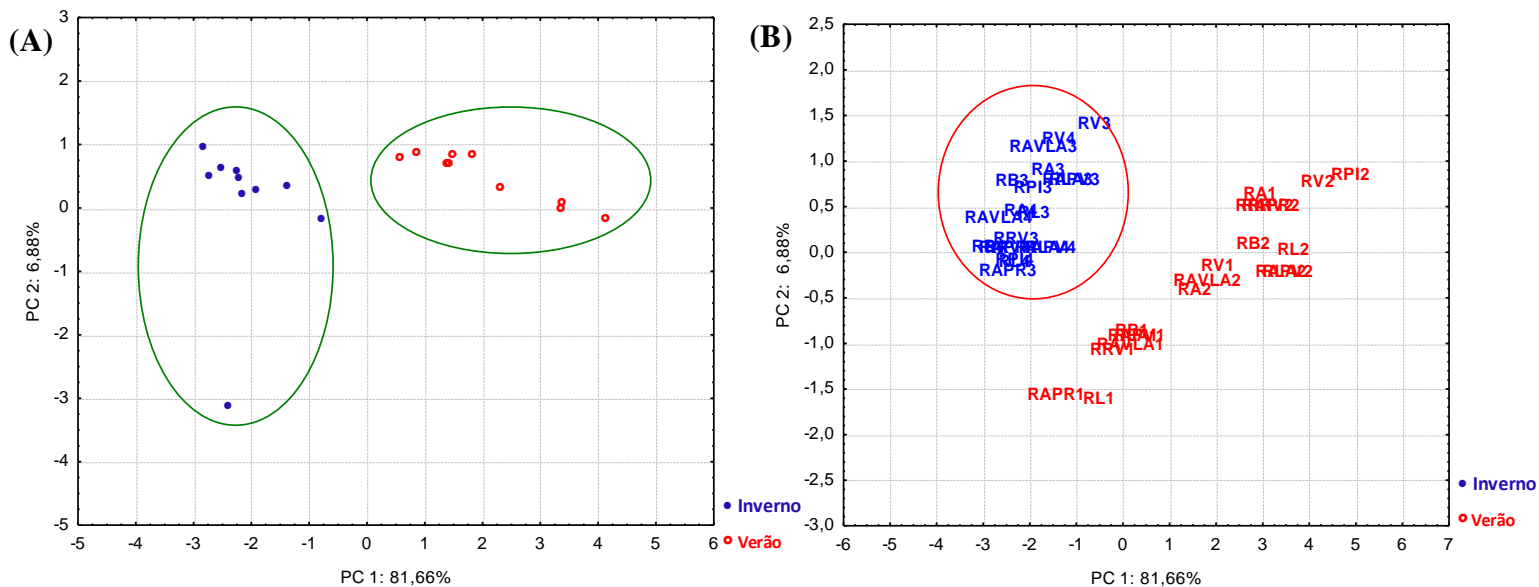
A Figura 11A, esboça uma projeção que foi realizada com o intuito de avaliar as diferenças obtidas entre as variedades de amostras coletadas, em condições de verão e inverno, confirmando que independente da coloração da amostra analisada, a estação do ano é um fator crucial para aumentar ou diminuir a absorção dos micro



e macro nutrientes pela amostra de pétalas de rosa. Isto depende diretamente da taxa de produção dos metabólitos secundários que contém os compostos fenólicos totais que sofrem influencia de alguns fatores como: sazonalidade, temperatura, disponibilidade hídricas, radiação solar, entre outras [124].

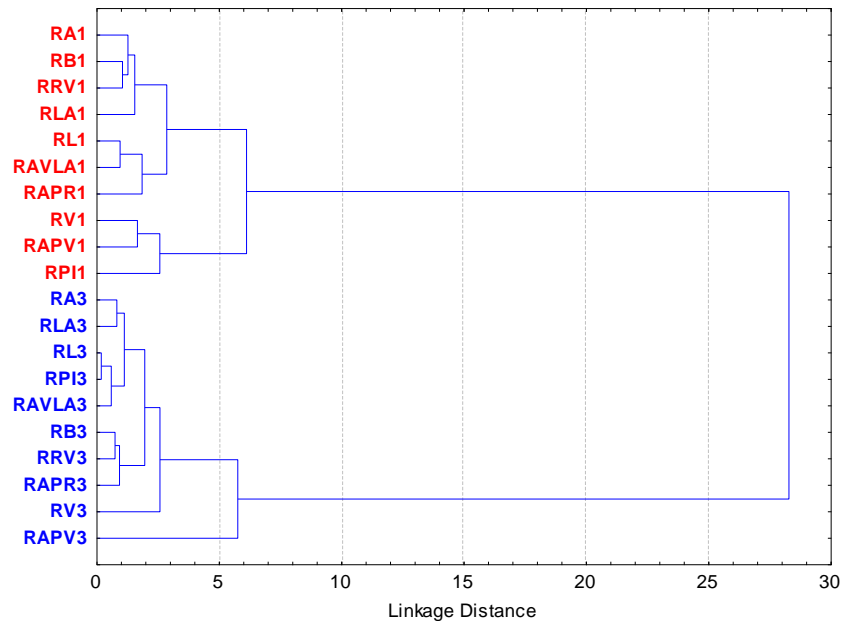
A produção dos metabólitos secundários ocorre também pelo aumento na síntese dos compostos fenólicos é influenciado pela correlação positiva do estresse hídrico pela redução do volume de chuva e pela intensidade de radiação solar protegendo as plantas da radiação UV-B que danificam os tecidos internos, podendo ser verificado na Tabela 14 que os valores de concentrações dos compostos fenólicos totais foram mais elevados no verão do que no inverno, supostamente explicando o aumento das concentrações dos minerais com exceção do Mn, através da quelação dos metais pelos compostos fenólicos favorecida no período de verão [96, 93].

**Figura 11.** Gráfico de escores (A e B) para avaliação da composição mineral em diferentes pétalas de rosas no verão e inverno



A avaliação dos dados da Tabela 10 por HCA foram inicialmente auto-escalados como na PCA. Utilizando o método de *Ward's* com objetivo de obter a mínima variância entre os vetores que compõem cada grupo, e as distâncias euclidianas, para verificar as semelhanças entre amostras, cujo dendrograma obtido é mostrado na Figura 12.

**Figura 12.** Dendrograma para amostras de rosa mostrando o método de Ward com distâncias Euclidianas



Analisando o HCA pode-se notar a formação de dois grupos homogêneos do período sazonal, apresentando distância de ligação de 6 a 29. Um grupo com altura de 6 corresponde às amostras referente ao verão e o 5,70 para as amostras referentes ao inverno. Destacando a estruturação de subgrupos na mesma sazonalidade, no verão estabelece-se o grau de similaridade igual a 2 com formação de três grupos: o primeiro equivale as amostras RA, RB, RRV e RLA; o segundo, às amostras RL, RAVLA e RAPR; o terceiro, às amostras RV e RAPV, e por último o quarto, à amostra solitária RPi. Para o inverno, com grau de similaridade igual a 0,90 podemos identificar cinco grupos: o primeiro RL, RPi e RAVLA; o segundo, identificado por RA e RLA; o terceiro, por RB, RRV e RAPR; o quarto e quinto são amostras solitárias RV e RAPV, respectivamente. Avaliando os grupos solitários nas estações, RPi se diferencia pelo alto teor de P, enquanto RV e RAPV através do P e Mn, respectivamente.

Os dados obtidos pelo HCA comprovam as informações fornecidas pelo PCA, onde ao analisar a Figura 11B foi possível observar claramente a separação das amostras de acordo com a estação de coleta, demonstrando que o dendrograma fundamenta-se nas distâncias reais entre as amostras, enquanto que as componentes principais as separações são projeções.

## 7.5 Composição mineral em amostras de pétalas de rosas

A Tabela 12 compara os valores de concentrações de macro e micronutrientes em três variedades de amostra de pétalas de rosa *in natura* no período de verão com outros alimentos vegetais. Neste sentido, as rosas se apresentam como ótima fonte de aquisição de minerais na alimentação, podendo ser recomendado como suplemento nutricional.

Os resultados das concentrações dos elementos em pétalas de rosas apresentam maiores valores e às vezes semelhantes aos alimentos vegetais mostrados na Tabela 12. Desta maneira, estes dados mostram que o conhecimento da composição elementar é fundamental para elaboração de dietas alimentares, além da prevenção e do tratamento de doenças ocasionadas pela deficiência ou excesso dos minerais no corpo humano. Neste estudo, percebeu-se que o sódio está abaixo do LQ (0,09 mg 100g<sup>-1</sup>), sendo favorável para indivíduos com restrições na dieta a base de sal.

**Tabela 12.** Comparação entre as concentrações de minerais em amostras de rosas e alguns vegetais

Vegetal	Composição mineral (mg 100g <sup>-1</sup> )									Referência
	Ca	K	Mg	P	Cu	Fe	Mn	Na	Zn	
RV	18,6	370	36,7	49,2	0,24	0,96	0,46	< LQ	0,42	Este trabalho
RPI	30,1	355	42,1	63,3	0,15	0,94	0,45	< LQ	0,43	Este trabalho
RAPV	29,1	453	36,8	53,4	0,22	0,79	0,47	< LQ	0,35	Este trabalho
Alface, lisa, crua	28,0	349	9,00	26,0	0,03	0,60	0,33	4,00	0,30	TACO, 2011[125]
Brócolis	109	347	38,8	-	-	0,70	0,90	17,9	1,10	Santos <i>et al.</i> 2013 [126]
Couve-flor crua	18,0	256	12,0	57,0	0,03	0,50	0,16	3,00	0,30	TACO, 2011 [125]
Flor <i>Fuchsia x hybrida</i>	23,9	197	17,0	21,6	0,27	0,81	0,81	12,6	1,10	Rop <i>et al.</i> , 2012 [73]
<i>Rosa odorata</i>	27,5	197	14,2	22,5	0,23	0,35	0,34	7,66	0,45	Rop <i>et al.</i> , 2012 [73]
Repolho	44,6	253	16,0	-	-	0,30	0,20	10,5	0,30	Anunciação <i>et al.</i> , 2011 [127]
Rúcula	117	233	18,0	25,0	0,04	0,90	0,24	9,00	0,20	TACO, 2011[125]

RV: Rosa vermelha, RPI: Rosa *pink*, RAPV: Rosa amarela com ponta vermelha

## 7.6 Contribuições das pétalas de rosa para o IDR

De acordo com a definição da FDA os alimentos podem ser classificados em “excelentes” para pelo menos 20% ou “boas” entre 10 a 20% da Ingestão Diária Recomendada (IDR), sendo consideradas como fontes de nutrientes quando uma porção do vegetal for ingerida [128,129]. Dos resultados obtidos em dez variedades de pétalas de rosas no período de verão foram calculada as contribuições percentuais dos minerais presentes com relação à IDR para um adulto. No caso do K foi utilizado o Valor Diário Permitido (RDA) é de 2000 mg. A Tabela 13 mostra os valores de IDR da composição elementar e a contribuição para IDR (%) em relação a uma porção 100 g de pétalas de rosa em diferentes variedades.

**Tabela 13.** Contribuição percentual da IDR para composição mineral das pétalas de rosa em 100 g

Amostra	Elementos								
	Ca	K	Mg	P	Cu	Fe	Mn	Na	Zn
<b>IDR (mg) [50]</b>	1000	2000	260	700	0,9	14	2,3	-	7
<b>Contribuições de IDR (%)</b>									
<b>RA</b>	1,75	1,51	14,26	7,00	0,02	5,75	18,04	-	5,16
<b>RL</b>	2,35	1,74	11,92	4,59	0,02	5,31	12,04	-	4,59
<b>RAVLA</b>	1,72	1,85	11,18	4,92	0,02	4,73	16,30	-	4,10
<b>RV</b>	1,86	1,73	14,10	7,03	0,03	6,84	19,83	-	6,07
<b>RLA</b>	2,23	1,56	11,20	6,52	0,02	6,24	14,22	-	5,30
<b>RB</b>	1,56	1,78	12,24	6,23	0,02	4,93	12,04	-	4,73
<b>RAPR</b>	2,30	1,60	11,82	5,60	0,02	3,74	19,35	-	3,11
<b>RRV</b>	1,69	1,56	12,38	7,03	0,02	4,88	14,70	-	4,90
<b>RAPV</b>	2,91	1,56	14,14	7,62	0,03	5,66	20,35	-	4,96
<b>RPi</b>	3,01	2,27	16,20	9,04	0,02	6,74	19,70	-	6,20

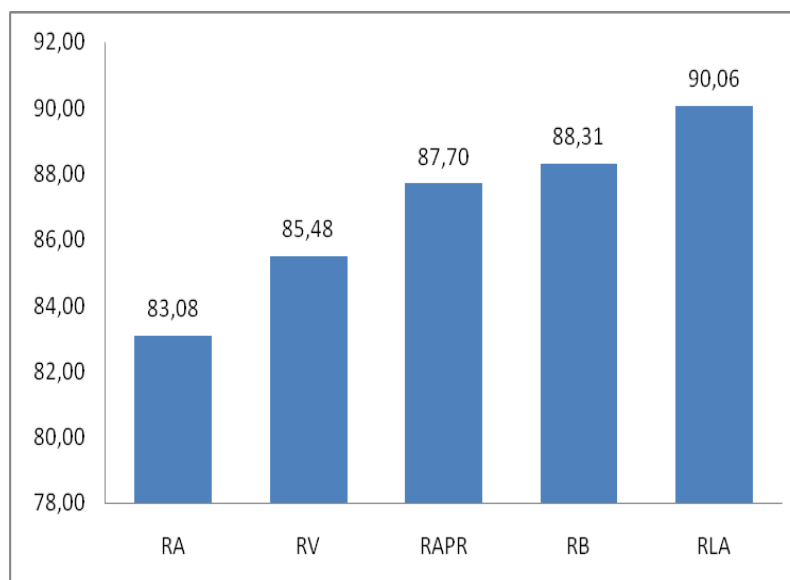
**RA:** Rosa amarela, **RL:** Rosa lilás, **RAVLA:** Rosa amarela e ponta vermelha por fora e laranja por dentro, **RV:** Rosa vermelha, **RLA:** Rosa laranja, **RB:** Rosa branca, **RAPR:** Rosa amarela com a ponta rosa, **RRV:** Rosa por fora e vermelha por dentro, **RAPV:** Rosa amarela com ponta vermelha, **RPi:** Rosa *pink*.

Segundo os critérios da FDA, as pétalas de rosa são consideradas boa fonte de nutrientes para o Mg (11,18 a 16,20%) e Mn (12,04 a 19,83%) para as dez variedades, com exceção do Mn de 20,35% que é considerado excelente para RAPV.

## 7.7 Determinação do teor de umidade

O teor de umidade em plantas apresenta variações que depende da parte e da espécie analisada, sendo esperado para flores e frutos entre 80% a 90% e folhas entre 60% a 90% [130]. Na Figura 13 observa-se que os teores médios de água presentes nas cinco variedades de pétalas de rosas são valores elevados e os resultados estão coerentes com os disponíveis na literatura [131]. Com relação ao teor de umidade coletada no verão, a rosa laranja apresentou os maiores valores ( $90,06 \pm 0,60$ ), enquanto a rosa amarela os menores ( $83,08 \pm 1,11$ ). Optou-se por comparar os valores desta matriz com algumas hortaliças presentes na Tabela de Composição de Alimentos (TACO) [125], cujos teores de umidade para o brócolis de 91%, couve-flor de 92,8%, espinafre de 94%, repolho branco cru de 94,7% e repolho roxo cru de 90,1%. Analisando os resultados percebe-se que os valores de teor de umidade próximos aos encontrados neste estudo.

**Figura 13.** Percentuais do teor de umidade em pétalas de rosa colhidas no verão



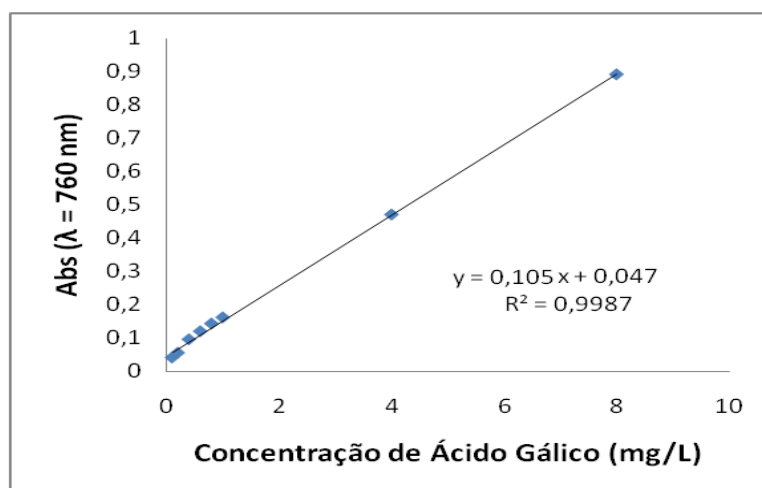
**RA:** Rosa amarela, **RV:** Rosa vermelha, **RAPR:** Rosa amarela com a ponta rosa, **RB:** Rosa branca e **RLA:** Rosa laranja.

## 7.8 Determinação compostos bioativos por espectrofotometria molecular

### 7.8.1 Teor de fenólicos totais (TPC)

A quantificação dos teores de fenólicos totais foi realizada em cinco variedades de pétalas de rosas no período de verão e inverno. Na Figura 14 a curva padrão de ácido gálico, cuja equação da reta expressa em  $y = 0,105x + 0,047$  e  $R^2 = 0,9987$ , onde os valores de absorvância dos extratos das amostras foram substituídos para calcular o teor de compostos fenólicos totais.

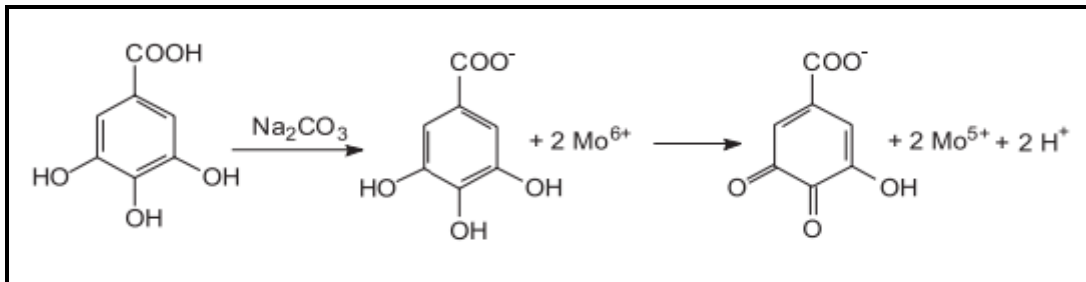
**Figura 14.** Curva de calibração do ácido gálico para determinação do teor compostos fenólicos totais



O método de Folin-Denis é o mais aplicado na determinação de fenólicos totais em vegetais, apesar de não ser um método específico, visto que consegue determinar todos os fenólicos e outras substâncias redutoras presentes nos alimentos. O reagente de Folin-Denis contém a mistura de ácidos fosfomolibídico e fosfotúngstico, no qual o molibdênio está no estado de oxidação (VI) apresentando a cor amarela do complexo  $\text{Na}_2\text{MoO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ . Em meio básico ocorre a desprotonação das hidroxilas dos compostos fenólicos (agentes redutores) formando ânions fenolatos. Posteriormente, acontece uma reação de oxirredução entre o ânion fenolato e o reagente de Folin-Denis, ocasionando a redução do estado de oxidação do molibdênio para (V) que produz o complexo molibdênio-tungstênio de coloração

azul  $[(\text{PMoW}_{11}\text{O}_4)^{4-}]$ , o qual absorve entre 620 e 760 nm [13, 93]. Na Figura 15 mostra-se reação de um composto fenólico, no caso do ácido gálico, com o reagente de Folin.

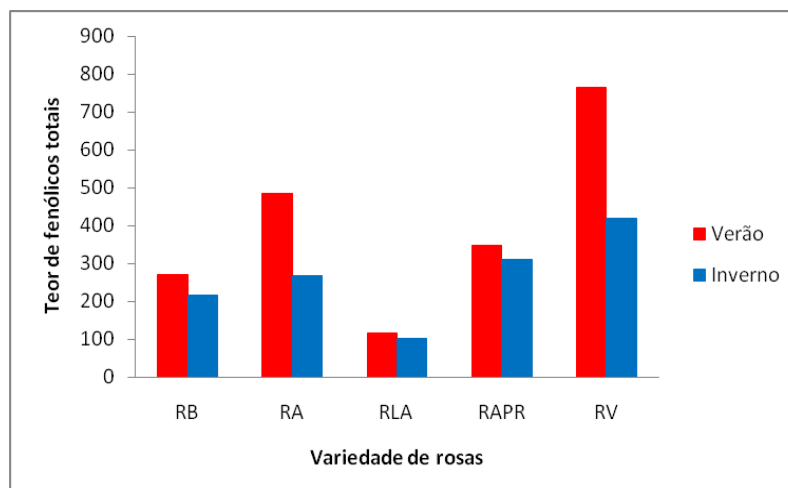
**Figura 15.** Reação do ácido gálico com molibdênio do reagente de Folin



Fonte: Adaptado de OLIVEIRA, 2009 [93].

Os resultados obtidos para os teores de fenólicos totais em pétalas de rosas estão representados na Figura 16, onde os valores no período de verão se apresentam maiores do que no inverno. Neste estudo, provavelmente a variação da taxa de produção de metabólitos secundários presente nas roseiras são influenciadas pelo conjunto de fatores: sazonalidade, radiação solar, disponibilidade hídrica, temperatura, entre outros que alteram as concentrações dos compostos fenólicos nas coletas em diferentes estações do ano [124].

**Figura 16.** Teor de fenólicos totais em pétalas de rosas nos períodos de verão e inverno



**RB:** Rosa branca, **RA:** Rosa amarela, **RLA:** Rosa laranja, **RAPR:** Rosa amarela com a ponta rosa e **RV:** Rosa vermelha.

Na Tabela 14, comparando-se a TPC das variedades de pétalas de rosas em diferentes estações do ano, evidenciou-se que a rosa vermelha obteve os valores máximos de  $765 \text{ mg}_{\text{EAG}} 100 \text{ g}^{-1}$  e  $420 \text{ mg}_{\text{EAG}} 100 \text{ g}^{-1}$  e a rosa laranja os valores mínimos de  $118 \text{ mg}_{\text{EAG}} 100 \text{ g}^{-1}$  e  $103 \text{ mg}_{\text{EAG}} 100 \text{ g}^{-1}$ , nos períodos de verão e inverno, respectivamente. A aplicação do teste  $t_{\text{Student}}$ , onde  $t_{\text{cal}} > t_{\text{tab}}$  mostrou que existe diferença significativa entre as coletas de verão e inverno para as cinco variedades de pétalas de rosa.

**Tabela 14.** Teores médios de fenólicos totais dos extratos de pétalas de rosas

Extrato	Teor de fenólicos totais ( $\text{mg}_{\text{EAG}} 100 \text{ g}^{-1}$ )		Teste $t_{\text{Student}}$	
	Verão	Inverno	$T_{\text{cal}}$	$T_{\text{tab}}$
RB	$271 \pm 10,1$	$218 \pm 3,09$	8,62	2,78
RA	$486 \pm 33,6$	$269 \pm 37,5$	7,44	2,78
RLA	$118 \pm 4,27$	$103 \pm 2,15$	5,52	2,78
RAPR	$349 \pm 8,04$	$312 \pm 6,25$	6,19	2,78
RV	$765 \pm 72,6$	$420 \pm 15,5$	8,05	2,78

**RB:** Rosa branca, **RA:** Rosa amarela, **RLA:** Rosa laranja, **RAPR:** Rosa amarela com a ponta rosa e **RV:** Rosa vermelha.

Analisando os valores obtidos para os teores de fenólicos totais encontrados nas pétalas de rosa estes foram semelhantes quando comparado com outras espécies de flores comestíveis no estudo realizados por Rop *et al.* [73] das espécies *Antirrhinum majus* ( $349 \text{ mg}_{\text{EAG}} 100 \text{ g}^{-1}$ ), *Begonia boliviensis* ( $492 \text{ mg}_{\text{EAG}} 100 \text{ g}^{-1}$ ), *Centaurea cyanus* ( $476 \text{ mg}_{\text{EAG}} 100 \text{ g}^{-1}$ ), *Chrysanthemum frutescens* ( $253 \text{ mg}_{\text{EAG}} 100 \text{ g}^{-1}$ ), *hrysanthemum parthenium* ( $272 \text{ mg}_{\text{EAG}} 100 \text{ g}^{-1}$ ), *Dianthus caryophyllus* ( $528 \text{ mg}_{\text{EAG}} 100 \text{ g}^{-1}$ ), *Fuchsia x hybrida* ( $345 \text{ mg}_{\text{EAG}} 100 \text{ g}^{-1}$ ), *Impatiens walleriana* ( $485 \text{ mg}_{\text{EAG}} 100 \text{ g}^{-1}$ ), *Rosa odorata* ( $502 \text{ mg}_{\text{EAG}} 100 \text{ g}^{-1}$ ), *Tagetes pátula* ( $458 \text{ mg}_{\text{EAG}} 100 \text{ g}^{-1}$ ), *Tropaeolum majus* ( $331 \text{ mg}_{\text{EAG}} 100 \text{ g}^{-1}$ ), *Viola x wittrockiana* ( $511 \text{ mg}_{\text{EAG}} 100 \text{ g}^{-1}$ ). Assim, descritos na literatura os compostos fenólicos encontrados em alimentos trazem diversos benefícios à saúde como: anticarcinogênicos, antioxidantes, antiinflamatórios, na prevenção a diabete e doenças cardiovasculares [132].

Em relação aos valores encontrados para o teor de compostos fenólicos totais descritos na literatura em hortaliças orgânicas para Arbos *et al.* [133] determinaram em rúcula ( $127 \text{ mg}_{\text{EAG}} 100 \text{ g}^{-1}$ ), alface ( $109 \text{ mg}_{\text{EAG}} 100 \text{ g}^{-1}$ ) e almeirão

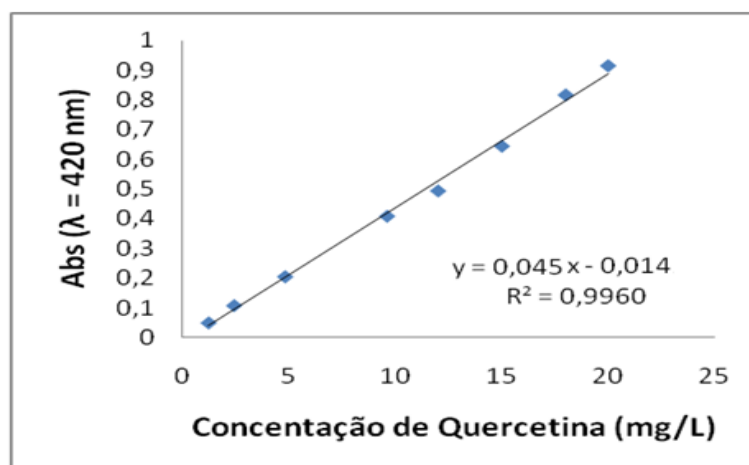


(92,2 mg<sub>EAG</sub> 100 g<sup>-1</sup>), verifica-se que as pétalas de rosa são matriz de teores de compostos fenólicos consideráveis de 103 à 765 mg<sub>EAG</sub> 100 g<sup>-1</sup> quando relacionados com este vegetais.

### 7.8.2 Flavonóides totais (TF)

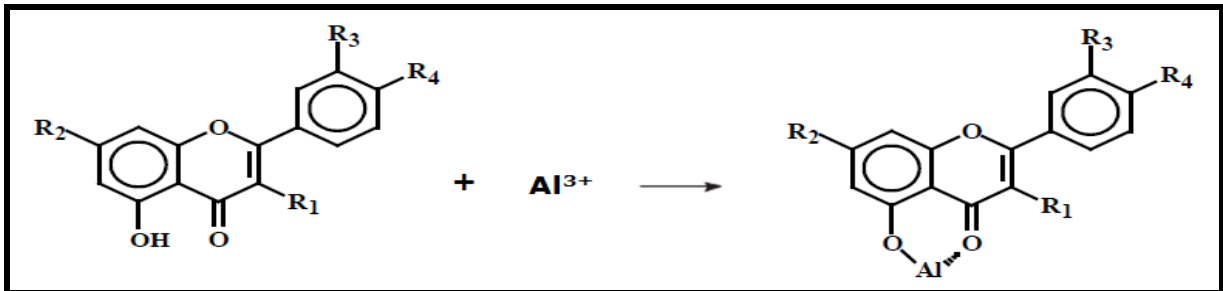
A determinação dos teores de flavonóides totais foi aplicada nas mesmas amostras coletadas para fenólicos totais. A quantificação foi realizada através de uma curva padrão de quercetina cuja equação da reta foi  $y = 0,045x - 0,014$  e  $R^2 = 0,9960$  (Figura 17).

**Figura 17.** Curva de calibração da quercetina para determinação de flavonóides totais



Para determinação de flavonóides totais utilizou-se o método espectrofotométrico depois da complexação com cloreto de alumínio [134]. O cátion  $Al^{3+}$  reage com flavonóides em metanol formando complexos estáveis, proporcionando um desvio batocrômico (deslocamento da banda de absorção para um maior comprimento de onda) na análise espectrofotométrica. O complexo estável obtido é formado através de um anel de seis membros estável pelo átomo de alumínio com a hidroxila em C-5 e o grupo carbonila em C-4, mostrado pelo esquema da Figura 18.

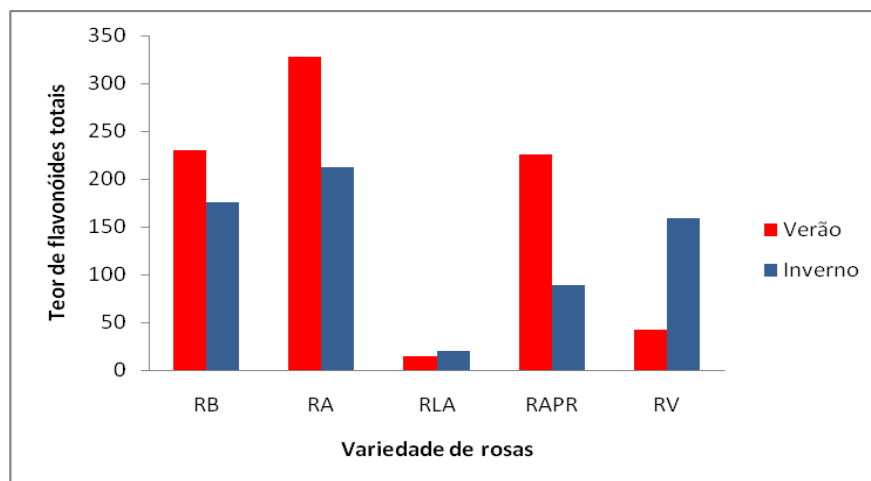
**Figura 18.** Formação do complexo flavonóide-Al em solução metanólica de  $AlCl_3$



Fonte: Adaptado de LIANDA, 2009 [134]

Analisando a Figura 19 verifica-se que os teores de flavonóides totais para as rosas de coloração amarela (RA), branca (RB) e amarela com a ponta rosa (RAPR) foram maiores no verão do que inverno, já as rosas de coloração vermelha (RV) e laranja (RLA), apresentaram comportamento anômalo, provavelmente algumas espécies orgânicas atuaram como interferentes. Para explicação do fato, de acordo com Bobbio e Bobbio [135], no grupo flavonóides estão incluídos os compostos flavonóis e antocianinas que apresentam variação na coloração de branco ao amarelo claro e do vermelho ao violeta, respectivamente. Supostamente as rosas das variedades: rosa branca (RB), rosa amarela (RA) e rosa amarela com a ponta rosa (RAPR) devem ter maior quantidade de flavonóis, quanto o tipo rosa vermelha (RV) e rosa laranja (RLA) uma quantidade maior de antocianinas, o que é possivelmente a explicação dos comportamentos diferenciados.

**Figura 19.** Teor de flavonóides totais em pétalas de rosas nos períodos de verão e inverno



**RB:** Rosa branca, **RA:** Rosa amarela, **RLA:** Rosa laranja, **RAPR:** Rosa amarela com a ponta rosa e **RV:** Rosa vermelha.

Avaliando-se o teor de flavonóides totais nas variedades de pétalas de rosas em diferentes estações apresentado na Tabela 15, mostrou-se que a rosa amarela alcançou os valores máximos de  $328 \text{ mg}_{\text{EQ}} 100 \text{ g}^{-1}$  e  $212 \text{ mg}_{\text{EQ}} 100 \text{ g}^{-1}$  e a rosa laranja os valores mínimos de  $14,2 \text{ mg}_{\text{EQ}} 100 \text{ g}^{-1}$  e  $20,1 \text{ mg}_{\text{EQ}} 100 \text{ g}^{-1}$ , nos períodos de verão e inverno, respectivamente. Com aplicação do teste  $t_{\text{Student}}$  observou que  $t_{\text{cal}} > t_{\text{tab}}$ , evidenciando que existe diferença significativa entre as coletas de verão e inverno nas amostras de pétalas de rosa.

**Tabela 15.** Teores médios de flavonóides totais dos extratos de pétalas de rosas

Extrato	Teor de flavonóides totais ( $\text{mg}_{\text{EQ}} 100 \text{ g}^{-1}$ )		Teste $t_{\text{Student}}$	
	Verão	Inverno	$T_{\text{cal}}$	$T_{\text{tab}}$
RB	$230 \pm 4,76$	$175 \pm 5,56$	12,81	2,78
RA	$328 \pm 6,67$	$212 \pm 1,56$	29,41	2,78
RLA	$14,2 \pm 0,28$	$20,1 \pm 0,97$	-10,23	2,78
RAPR	$226 \pm 7,78$	$88,6 \pm 2,86$	28,63	2,78
RV	$41,7 \pm 2,04$	$159 \pm 1,67$	-77,51	2,78

RB: Rosa branca, RA: Rosa amarela, RLA: Rosa laranja, RAPR: Rosa amarela com a ponta rosa e RV: Rosa vermelha.

Observando os valores da Tabela 15 referentes aos teores de flavonóides totais pode se verificar que dentre as variedades de pétalas, a rosa laranja apresentou menor valor ficando as maiores concentrações para as demais rosas. Os teores de flavonóides totais em rosas obtiveram valores similares quando comparados com outras espécies de flores comestíveis no estudo realizado por Rop *et al.* [73], no qual os teores de FT encontrados foram: *Antirrhinum majus* ( $178 \text{ mg}_{\text{Rutina}} 100 \text{ g}^{-1}$ ), *Begonia boliviensis* ( $184 \text{ mg}_{\text{Rutina}} 100 \text{ g}^{-1}$ ), *Centaurea cyanus* ( $181 \text{ mg}_{\text{Rutina}} 100 \text{ g}^{-1}$ ), *Chrysanthemum frutescens* ( $123 \text{ mg}_{\text{Rutina}} 100 \text{ g}^{-1}$ ), *Chrysanthemum parthenium* ( $129 \text{ mg}_{\text{Rutina}} 100 \text{ g}^{-1}$ ), *Dianthus caryophyllus* ( $227 \text{ mg}_{\text{Rutina}} 100 \text{ g}^{-1}$ ), *Fuchsia x hybrida* ( $166 \text{ mg}_{\text{Rutina}} 100 \text{ g}^{-1}$ ), *Impatiens walleriana* ( $193 \text{ mg}_{\text{Rutina}} 100 \text{ g}^{-1}$ ), *Rosa odorata* ( $204 \text{ mg}_{\text{Rutina}} 100 \text{ g}^{-1}$ ), *Tagetes pátula* ( $190 \text{ mg}_{\text{Rutina}} 100 \text{ g}^{-1}$ ), *Tropaeolum majus* ( $135 \text{ mg}_{\text{Rutina}} 100 \text{ g}^{-1}$ ), *Viola x wittrockiana* ( $199 \text{ mg}_{\text{Rutina}} 100 \text{ g}^{-1}$ ). Desta maneira, as pétalas de rosas podem ser consideradas uma boa fonte de flavonóides, o que indica que devem ser saudáveis para a dieta humana.

Comparando os valores encontrados para o teor de flavonóides totais descritos na literatura para os vegetais, Marinova, Ribarova e Atanassova [136] determinaram em alface ( $97,2 \text{ mg}_{\text{CE}} 100 \text{ g}^{-1}$ ), salsa ( $27,2 \text{ mg}_{\text{CE}} 100 \text{ g}^{-1}$ ), couve-de-bruxelas ( $33,1 \text{ mg}_{\text{CE}} 100 \text{ g}^{-1}$ ) e brócolis ( $18,8 \text{ mg}_{\text{CE}} 100 \text{ g}^{-1}$ ), verifica-se que as pétalas de rosa são matriz de teores de flavonóides consideráveis de  $14,2$  à  $328 \text{ mg}_{\text{EQ}} 100 \text{ g}^{-1}$  quando relacionados com estas hortaliças.

Neste trabalho os valores obtidos de flavonóides totais foram menores aos fenólicos totais, estando de acordo com outros resultados de autores sobre estudo de flores comestíveis [65, 73], mostrando que não houve a interferência de outras substâncias fenólicas, por exemplo, os ácidos fenólicos, já que mesmo que estes formem complexo com cátion de alumínio e absorvem em comprimentos de ondas muito inferiores [134].

## 8. CONCLUSÃO

A otimização do método analítico foi aplicado um planejamento fatorial completo  $2^3$  na mistura oxidativa  $\text{HNO}_3$  /  $\text{H}_2\text{SO}_4$  /  $\text{H}_2\text{O}_2$  em bloco digestor com sistema em refluxo. No qual se estabeleceu a condição mínima como ótima na decomposição da rosa branca *in natura*, tendo que adequar o volume de  $\text{HNO}_3$  para 2,5 mL para a decomposição ser completa para as pétalas de rosas coloridas.

Para a eficiência da digestão foi analisado o teor de carbono residual com valores na faixa de 0,88 a 1,64% (m/m), sendo os resultados foram adequados para as condições investigadas. Avaliaram-se os parâmetros químicos como precisão e exatidão consideradas aceitáveis, apresentando bons percentuais de recuperações dos CRM, menores valores de LD e LQ.

As ferramentas quimiométricas possibilitaram extrair informações relevantes sobre a variação sazonal das amostras de dez variedades de pétalas de rosa. Os resultados do PCA e HCA demonstraram que Ca, P, Mg, Zn, Cu e Fe contribuem para maior parte da variabilidade entre as amostras de verão e inverno, com uma contribuição menor de Mn.

Neste estudo o período de verão apresentou os maiores valores de concentração de minerais e fenólicos totais, à exceção para Mn. Os flavonóides totais apresentaram mesma tendência para as rosas de coloração RB, RA e RAPR com concentrações maiores no verão e comportamento diferenciado para as RV e RLA, possivelmente pela presença dos flavonóis e antocianinas, respectivamente.

Considerando-se o consumo diário recomendado para os minerais estudados, nas dez variedades de rosa o Mg (11,18 a 16,20%) e Mn (12,04 a 19,83%) podem ser classificados como boas fontes e a rosa RAPV é considerada excelente fonte de Mn de 20,35%.

Comparando os teores de minerais, TPC e TF encontrados em hortaliças (alface, rúcula, brócolis e dentre outras) e flores comestíveis, apresentando valores semelhantes aos das rosas. Desta maneira, as pétalas de rosa apresentam potencial para suplemento nutricional, podendo prevenir doenças crônicas e degenerativas através dos teores de polifenóis, além de possuírem um baixo teor de sódio para prevenção da hipertensão.

## **9. PERSPECTIVAS FUTURAS**

Como sugestão de etapas futuras desse trabalho propõe-se a análise do teor da capacidade antioxidante, quantificação e identificação dos tipos de compostos fenólicos e outros fitoquímicos.

## REFERÊNCIAS

---

- [1] KOIKE, A.; BARREIRA, J. C. M.; BARROS, L.; SANTOS-BUELGA, C.; VILLAVICENCIO, A. L. C. H.; FERREIRA, I. C. F. R. Edible flower of *Viola tricolor* L. as new functional food: Antioxidant activity, individual phenolics and effects of gamma and electron-beam irradiation. **Food Chemistry**, v. 179, p. 6-14, 2015.
- [2] DALE F. G.; ZIGA, C. J. **A Handbook of edible flowers: their cultivation and use**. New York: Barnes & Noble Books, 1999. 80 p.
- [3] MLCEK, J.; ROP, O. Fresh edible flowers of ornamental plants – A new source of nutraceutical foods. **Trends in Food Science & Technology**, v. 22, p. 561-569, 2011.
- [4] BARBIERI, R. L.; STUMPF, E. R. T. Origem e evolução de plantas cultivadas. **Revista Brasileira Agrociência**, v.11, n. 3, p. 267-271, 2005.
- [5] HUSTI, A.; CANTOR, M.; BUTA, E.; HORT, D.; Current Trends of Using Ornamental Plants in Culinary Arts. **ProEnvironment**, v. 6, p. 52-58, 2013.
- [6] FOOD INGREDIENTES BRASIL, **Dossiê: os minerais na alimentação**. 2008. Disponível em: <[www.revista-fi.com](http://www.revista-fi.com)>. Acesso em: 4 de ago. 2015.
- [7] ALMEIDA, M. M. B.; SOUSA, P. H. M.; FONSECA, M. L.; MAGALHÃES, C. E. C.; LOPES, M. F. G.; LEMOS, T. L. G. Avaliação de macro e microminerais em frutas tropicais cultivadas no nordeste brasileiro. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v. 29, p. 581-586, 2009.
- [8] WORLD HEALTH ORGANIZATION, **Global Strategy on Diet, Physical Activity and Health**. 2010. Disponível em: <<http://www.who.int/dietphysicalactivity/publications/releases/pr84/en/>>. Acesso em: 10 de ago. 2015.
- [9] JURCA, T.; MARIAM, E.; VICAS, L.; GATEA, D. Simultaneous Determination of Metal in *Hypericum Perforatum* L. by ICP-OES. **Revista de Chimie**, v. 62, p. 1154-1156, 2011.
- [10] MITIC, S. S.; STOJKOVIC, M. B.; PAVLOVIC, J. L.; MITIC, M. N.; STOJANOVIC, B. T. Antioxidant activity, phenolic and mineral content of *Stachys germanica* L. (Lamiaceae). **Oxidation Communications**, v. 35, p. 1011-1020, 2012.
- [11] NAEEM, K.; YAWAR, W.; MUHAMMAD, B.; REHANA, I. Assessment of macronutrients and heavy in *Fagonia cretica* linn of Pakistan by atomic spectroscopy. **Bulletin of the Chemical Society of Ethiopia**, v. 2, p. 177-185, 2014.
- [12] CAVAIUOLO, M.; COCETTA, G.; FERRANTE, A. The antioxidants changes in ornamental flowers during development and senescence. **Antioxidants**, v. 2, p. 132-155, 2013.

- 
- [13] ANGELO, P. M.; JORGE, N. Compostos fenólicos em alimentos – uma breve revisão. **Revista do Instituto Adolfo Lutz**, v. 66, p. 1-9, 2007.
- [14] MARTÍNEZ-FLÓREZ, S.; GONZÁLEZ-GALLEGO, J.; CULEBRAS, J. M.; TUÑÓN, M. J. Los flavonoides: propiedades y acciones antioxidantes. **Nutrición Hospitalaria**, v.17, p.271-278, 2002.
- [15] MINUSSI, R. C.; ROSSI, M.; BOLOGNA, L.; CORDI, L.; ROTILIO, D.; PASTORES, G. M.; DURÁN. Phenolic compounds and total antioxidant potential of commercial wines. **Food Chemistry**, v. 82, p. 409-416, 2003.
- [16] BARBOSA, J. G. **Produção comercial de rosas**. Viçosa: Aprenda Fácil, 2003. 200 p.
- [17] ÁLVAREZ, M. **Rosas**. Buenos Aires: Albatros, 2005. 112 p.
- [18] United States Department of Agriculture, **Natural Resources Conservation Service**. Disponível em: <<http://plants.usda.gov/java/ClassificationServlet?source=display&classid=ROSA5>>. Acesso em: 14 de ago. 2015.
- [19] BIANCHI, G.; NUZZI, M.; LEVA, A. A.; RIZZOLO, A. Development of a headspace-solid phase micro extraction method to monitor changes in volatile profile of rose (*Rosa hybrida*, cv David Austin) petals during processing. **Journal of Chromatography A**, v. 1150, p. 190-197, 2007.
- [20] BARASH, C. W. **Roses: an illustrated identifier and guide to cultivation**. New Jersey: Chartwell Books, 1991. 128 p.
- [21] REDDELL, R. C. **The rose bible**. New York: Harmony, 1998. 252 p.
- [22] HARKNESS, P. **The rose: an illustrated history**. London: Firefly, 2003. 344 p.
- [23] BARBIERI, R. L., STUMPF, E. R. T.; **Origem e evolução de plantas cultivadas**. Brasília: EMBRAPA, 2008. 303 p.
- [24] FLOWERMONTHCLUB. Disponível em: <<http://www.flowermonthclub.com/flower-history.htm>>. Acesso em: 3 de ago. 2015.
- [25] MAUSETH, J. D. **Botany: an introduction to plant biology**. Philadelphia: Saunders College, 1995. 794 p.
- [26] SQUIRE, D., NEWDIDICK, J. **The book of the Rose**. New York: Crescent Books, 1991. 160p.
- [27] PETRY, C. **Plantas ornamentais: Aspectos para a produção**. Passo Fundo: Editora Universitária, 2000. 155p.



- 
- [28] PIVETTA, K.F.L.; PEREIRA, F.M.; BANZATO, D.A.; GRAZIANO, T.T. Effect of type of cuttings and indolbutyric acid on the rooting of rose (*Rosa sp.* 'Red Success') leafy cuttings during two seasons. **Acta Horticulturae**, n. 482, p.333-338, 1999.
- [29] SARZI, I.; PIVETTA, K. F. L. Efeito das estações do ano e do ácido indolbutírico no enraizamento de estacas de variedades de miniroseira (*Rosa spp.*). **Científica**, v. 332, p. 62-68, 2005.
- [30] LANDGRAF, P. R. C.; PAIVA, P. D. O. Produção de flores cortadas no estado de Minas Gerais. **Ciência e Agrotecnologia**, v. 33, n. 1, p. 120-126, 2009.
- [31] RAVEN, P. H.; EVERT, R. F.; EICHHORN, S. E. **Biologia vegetal**. 7 ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2007, 830 p.
- [32] GELMINI, G. A.; LONGHI, A. A. **Herbicidas: indicações básicas para a cultura da rosa**. Campinas: CATI, 1997, 10 p.
- [33] FUMAGALI, E.; GONÇALVES, R. A. C.; MACHADO, M. F. P. S.; VIDOTI, G. J.; OLIVEIRA, A. J. B. Produção de metabólitos secundários em cultura de células e tecidos de plantas: o exemplo dos gêneros *Tabernaemontana* e *Aspidosperma*. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v. 18, n. 4, p.627-641, 2008.
- [34] BRAZ-FILHO, R. Contribuição da fitoquímica para o desenvolvimento de um país emergente. **Química Nova**, v. 33, p. 229-339, 2010.
- [35] KATSUMOTO, Y.; FUKUCHI-MIZUTANI, M.; FUKUI, Y.; BRUGLIERA, F.; HOLTON, T. A.; KARAN, M.; NAKAMURA, N.; YONEKURA-SAKAKIBARA, K.; TOGAMI, J.; PIGEARE, A.; TAO, G. Q.; NEHRA, N. S.; LU, C.Y.; DYSON, B. K.; TSUDA, S.; ASHIKARI, T.; KUSUMI, T.; MASON, J. G.; TANAKA, Y. Engineering of the Rose Flavonoid Biosynthetic Pathway Successfully Generated Blue-Hued Flower Accumulating Delphinidin. **Plant Cell Physiol**, v. 48, p. 1589-1600, 2007.
- [36] NODA, N.; AIDA, R.; KISHIMOTO, S.; ISHIGURO, K.; FUKUCHI-MIZUTANI, M.; TANAKA, Y.; OHMIYA, A. Genetic Engineering of Novel Blue-Colored Chrysanthemums Produced by Accumulation of Delphinidin-Based Anthocyanins. **Plant Cell Physiol**, v. 54, p. 1684-1695, 2013.
- [37] LARCHER, W. **Ecofisiologia vegetal**. São Carlos: RIMA Artes e Textos, 2000. 531 p.
- [38] FERNANDES, M. S. **Nutrição mineral de plantas**. Viçosa: Sociedade Brasileira de Ciência do Solo, 2006. 432 p.
- [39] TAIZ, L.; ZEIGER, E. **Fisiologia Vegetal**. 4ª edição, Porto Alegre: Artmed, 2009. 819 p.
- [40] LINS, S. R. O.; COELHO, R. S. B. Ocorrência de doenças em plantas ornamentais tropicais no Estado de Pernambuco. **Fitopatologia Brasileira**, v. 29, p. 332-335, 2004.

- 
- [41] SCHERER, A. M. S. Flores da Bahia. **Bahia Agrícola**, v. 5, p. 17-18, 2002.
- [42] CUTLER, R.R. **Medicinal and pharmaceutical uses**. A.V. Roberts, T. Debener, S. Gudín (Eds.), Encyclopedia of rose science, Academic press, San Diego: CA, 2003. 716-726 p.
- [43] FLANDRIN, J. L.; MONTANARI, M. **História da alimentação**. Tradução de Luciano Vieira Machado e Guilherme J. F. Teixeira). São Paulo: Estação Liberdade, 1998. 885 p.
- [44] FRANCO, A. **De caçador a gourmet: uma historia da gastronomia**. Brasília: Thesaurus, 1995. 238 p.
- [45] REVENTOS, P. **El licorista em casa**. Barcelona: SINTES, 1971. 112 p.
- [46] TEIXEIRA, L. J. Q.; SIMÕES, L. S.; ROCHA, C. T.; SARAIVA, S. H.; JUNQUEIRA, M. S. Tecnologia, composição e processamento de licores. **Enciclopédia biosfera**, v. 7, p. 1-17, 2011.
- [47] GILL, J. D.; POGGE, F. L. Rosa L., rose. In: Schopmeyer C. S., ed. **Seeds of Woody plants in the United States**. Washington DC: Forest Service, USDA, 1974. p. 732-737.
- [48] FUCK, S. B.; ATHANÁZIO, J. C.; LIMA, C. B.; MING, L. C. Plantas medicinais utilizadas na medicina popular por moradores da área urbana de Bandeirantes, PR, Brasil, **Semina: Ciências Agrárias**, v. 26, n. 3, p. 291-296, 2005.
- [49] LIMA, C. B.; BELLETTINI, N. M. T.; SILVA, A. S.; CHEIRUBIM, A. P.; JANANI, J. K.; VIEIRA, M. A. V.; AMADOR, T. S. Uso de plantas medicinais pela população da zona urbana de Bandeirantes-PR. **Revista Brasileira de Biociências**, v. 5, p. 600-602, 2007.
- [50] BRASIL. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Consulta Pública nº 80, de 13 de dezembro de 2004. Dispõe “sobre o regulamento técnico sobre a ingestão diária recomendada (IDR) de proteína, vitaminas e minerais”, **Diário Oficial da União**. p. 1-4, 2004. Disponível em: <http://www4.anvisa.gov.br/base/visadoc/CP/CP%5B8989-1-0%5D.PDF>. Acesso em: 4 de setembro de 2015.
- [51] PADOVANI, R. M.; AMAYA-FARFÁN, J.; COLUGNATI, F. A. B.; DOMENE, S. M. A.; Dietary reference intakes: aplicabilidade das tabelas em estudos nutricionais. **Revista de Nutrição**, v. 19, p. 741-760, 2006.
- [52] ARNAUD, C.D.; SÁNCHEZ, S.D. Calcio y fósforo. En: Ziegler E, Filer LJ, editores. **Conocimientos actuales sobre nutrición**. 7 ed. Washington, DC: OPS; 1997. p. 260-271.
- [53] KRAUSE, M.V.; MAHAN, L.K. **Alimentos, nutrição e dietoterapia**. São

---

Paulo: Atheneu, 462p, 1998.

[54] CHAVES F. Manganese balance and clinic young men fed a manganese diet. **Journal of Nutrition**, v.117, p.133-143, 1997.

[55] BELITZ, H. D.; GROSH, W, **Química de los alimentos**, 2ª ed. Zaragoza: Acribia, 1997. 1087p.

[56] RAVASCO, P.; FERREIRA, C.; CAMILO, M. E. Alimentação para a saúde a relevância da intervenção dos médicos. **Acta Médica Portuguesa**, v. 24, p. 783-790, 2011.

[57] HE, F.J.; MACGREGOR, G.A. Beneficial effects of potassium on human health. **Physiologia Plantarum**, v. 133, p. 725-735, 2008.

[58] NARDI, E. P.; EVANGELISTA, F. S.; TORMEN, L.; SAINT´PIERRE, T. D.; CURTIUS, A. J.; SOUZA, S. S.; BARBOSA JUNIOR, F. The use of inductively coupled plasma mass spectrometry (ICP-MS) for the determination of toxic and essential elements in different types of food samples. **Food Chemistry**, v. 112, p. 727-732, 2009.

[59] SILVA, F. C. **Manual de análise química de solos, plantas e fertilizantes**. 2ª ed. Brasília: Embrapa Informações Tecnológica, 2009. 627 p.

[60] AMORIM, F. A. C.; LOBO, I. P.; SANTOS, V. L. C. S.; FERREIRA, S. L. C. Espectrometria de absorção atômica: o caminho para determinações multi-elementares. **Química Nova**, v. 31, p. 1784-1790, 2008.

[61] LEITE, F.; **Validação em análise química**. 5ª ed. São Paulo: Editora Átomo, 2008. 357 p.

[62] FERREIRA, S. L. C.; JESUS, R. M.; MATOS, G. D.; ANDRADE, J. B.; BRUNS, R. E.; SANTOS, W. N. L.; CAVALCANTE, D. D.; VALE, M. G. R.; DESSUY, M. B. Multivariate optimization and validation of an analytical method for the determination of cadmium in wines employing ET AAS. **Journal of the Brazilian Chemical Society**, v. 20, p. 788-794, 2009.

[63] TAKASE, I.; PEREIRA, H. B.; LUNA, A. S.; GRINBERG, P.; CAMPOS, R. C. A geração química de vapor em espectrometria atômica. **Química Nova**, v. 25, p. 1132-1144, 2002.

[64] SKOOG, D. A.; WEST, D. M.; HOLLER, F. J.; CROUCH, S. R. (2006). **Fundamentos de Química Analítica**. Tradução Marco Tadeu Grassi. Revisão Técnica Célio Pasquini. São Paulo: Cengage Learning, 2008.

[65] PRATA, G. G. B. **Compostos bioativos e atividade antioxidante de pétalas de rosas de corte**. 2009. 111 f. Dissertação (Mestrado em Ciência e Tecnologia de Alimentos) – Universidade Federal da Paraíba, João Pessoa. 2009.

- 
- [66] KATO-TOYAMA, Y.; YOSHIDA, K.; FUJIMORI, E.; HARAGUCHI, H.; SHIMIZU, Y.; KONDO, T. Analysis of metal elements of hydrangea sepals at various growing stages by ICP-AES. **Biochemical Engineering Journal**, v. 14, p. 237-241, 2003.
- [67] GENTSCHEVA, G. D.; STAFILOV, T.; IVANOVA, E. H. Determination of some essential and toxic elements in herbs from Bulgaria and Macedonia using atomic spectrometry. **Eurasian Journal of Analytical Chemistry**, v. 2, p. 104-111, 2010.
- [68] BARDAROV, K.; MIHAYLOVA, V.; DJINGOVA, R. Study on the elemental composition of *Clinopodium Vulgare L.* – medicinal plant, collected from different regions of Bulgaria. **Bulgarian Journal of Agricultural Science**, v. 21, p. 151-158, 2015.
- [69] CINDRIĆ, I. J.; ZEINER, M.; GLAMUZINA, E.; STINGEDER, G. Elemental characterisation of the medical herbs *Salvia officinalis L.* and *Teucrium montanum L.* grow in Croatia. **Microchemical Journal**, v. 107, p. 185-189, 2013.
- [70] GOMEZ, M. R.; CERUTTI, S.; OLSINA, R. A.; SILVA, M. F.; MARTÍNEZ, L. D. Metal content monitoring in *Hypericum perforatum* pharmaceutical derivatives by atomic absorption and emission spectrometry. **Journal of Pharmaceutical and Biomedical**, v. 34, p. 569-576, 2004.
- [71] CINDRIĆ, I. J.; ZEINER, M.; POŽGAJ, M.; ŠILIĆ, T.; STINGEDER, G. Elemental characterisation of the medical plant *Alchemilla velebitica*. **Journal of Trace Elements in Medicine and Biology**, v. 31, p. 274-278, 2015.
- [72] RAŽIĆ, S.; ONJIA, A.; POTKONJAK, B. Trace elements analysis of *Echinacea purpurea* – hebal medicinal. **Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis**, v. 33, p. 845-850, 2003.
- [73] ROP, O.; MLCEK, J.; JURIKOVA, T.; NEUGEBAUEROVA, J.; VABKOVA, J. Edible flowers – A new promising source of mineral elements in human nutrition. **Molecules**, v. 17, p. 6672-6683, 2012.
- [74] TARLEY, C. R. T.; SILVEIRA, G.; SANTOS, W. N. L.; MATOS, G. D.; SILVA, E. G. P.; BEZERRA, M. A.; MIRÓ, M.; FERREIRA, S. L. C.; Chemometric tools in electroanalytical chemistry: Methods for optimization based on factorial design and response surface methodology. **Microchemical Journal**, v. 92, p. 58-67, 2009.
- [75] CALADO, V.; MONTGOMERY, D. C.; **Planejamento de experimentos usando o Statistica**. Rio de Janeiro: E-Papers Serviços Editoriais, 2003. 260 p.
- [76] FERREIRA, S. L. C.; **Introdução às técnicas de planejamento de experimentos**. Salvador: Vento Leste, 2015. 190 p.
- [77] PEREIRA-FILHO, E. R. **Planejamento fatorial em química: maximizando a obtenção de resultados**, São Carlos: EdUFSCar, 2015. 88 p.

- 
- [78] FERREIRA, S. L. C.; BRUNS, R. E.; FERREIRA, H. S.; MATOS, G. D.; DAVID, J. M.; BRANDÃO, G. C.; SILVA, E. G. P.; PORTUGAL, L. A.; REIS, P. S.; SOUZA, A. S.; SANTOS, W. N. L. Box-Behnken design: An alternative for the optimization of analytical methods. **Analytica Chimica Acta**, v. 597, p. 179-186, 2007.
- [79] SOYLAK, M.; TUZEN, M.; SOUZA, A. S.; KORN, M. G. A.; FERREIRA, S. L. C. Optimization of microwave assisted digestion procedure for the determination of zinc, copper and nickel in tea samples employing flame atomic absorption spectrometry. **Journal of Hazardous Materials**, v. 149, p. 264-268, 2007.
- [80] FROES, R. E. S.; BORGES-NETO, W.; SILVA, N. O. C.; NAVEIRA, R. L. P.; NASCENTES, C. C.; SILVA, J. B. B. Multivariate optimization by exploratory analysis applied to the determination of microelements in fruit juice by inductively coupled plasma optical emission spectrometry. **Spectrochimica Acta Part B**, v. 64, p. 619-622, 2009.
- [81] KHAJEH, M. Multivariate optimization of microwave-assisted digestion of copper and zinc from powder milk. **Journal of the Brazilian Chemical Society**, v. 23, p. 1704-1710, 2012.
- [82] SOUZA, D. M.; MADARI, B. E.; SENA, M. M. Aplicação de métodos quimiométricos na otimização da extração de Ca, Mg, K, Fe, Zn, Cu e Mn em folhas de Braquiária. **Química Nova**, v. 35, p. 175-179, 2012.
- [83] MOURA, M. C. S.; LOPES, A. N. C.; MOITA, G. C.; MOITA-NETO, J. M. Estudo multivariado de solos urbanos da cidade de Teresina. **Química Nova**, v. 29, p. 429-435, 2006.
- [84] CORREIA, P. R. M.; FERREIRA, M. M. C. Reconhecimento de padrões por métodos não supervisionados: explorando procedimentos quimiométricos para tratamento de dados analíticos. **Química Nova**, v. 30, p. 481-487, 2007.
- [85] FERREIRA, M. M. C. **Quimiometria – Conceitos, Métodos e Aplicações**. São Paulo: Editora da Unicamp, 2015.
- [86] MARTENS, H.; NAES, T. **Multivariate Calibration**. Nova Iorque: John Wiley & Sons, 1989. 504 p.
- [87] KHARE, P.; BARUAH, B. P.; RAO, P. G. Application of chemometrics to study the kinetics of coal pyrolysis: A novel approach. **Fuel**, v. 90, p. 3299-3305, 2011.
- [88] FADIGAS, J. C.; SANTOS, A. M. P.; JESUS, R. M.; LIMA, D. C.; FRAGOSO, W. D.; DAVID, J. M.; FERREIRA, S. L. C. Use of multivariate analysis techniques for the characterization of analytical results for the determination of the mineral composition of kale. **Microchemical Journal**, v. 96, p. 352-356, 2010.
- [89] SANTOS, A. M. P.; OLIVEIRA, A. C.; SOUZA, A. S.; JESUS, R. M.; FERREIRA, S. L. C. Determination and evaluation of the mineral composition of chinese cabbage (*Beta vulgaris*). **Food Analytical Methods**, v. 4, p. 567-573, 2011.

- 
- [90] GONG, S.; LUO, L.; GONG, W.; GAO, Y.; XIE, M. Multivariate analyses of element concentrations revealed the groupings of propolis from different regions in China. **Food Chemistry**, v. 134, p. 583-588, 2012.
- [91] SANTOS, I. F.; SANTOS, A. M. P.; BARBOSA, U. A.; LIMA, J. S.; SANTOS, D. C.; MATOS, G. D. Multivariate analysis of the mineral content of raw and cooked okra (*Abelmoschus esculentus* L.). **Microchemical Journal**, v. 110, p. 439-443, 2013.
- [92] BRAVO, L. Polyphenols: chemistry, dietary sources, metabolism and nutritional significance. **Nutrition Review**, v. 56, p. 317-333, 1998.
- [93] OLIVEIRA, A. C.; VALENTIM, I. B.; GOULART, M. O. F.; SILVA, C. A.; BECHARA, E. J. H.; TREVISAN, M. T. S. Fontes vegetais naturais de antioxidantes. **Química Nova**, v. 32, p. 689-702, 2009.
- [94] PINTO, M. S. **Compostos bioativos de cultivares brasileiras de morango (Fragaria x ananassa Duch.): caracterização e estudo de biodisponibilidade dos derivados de ácidos elágico**. 2008. 183 f. Tese (Doutorado em Ciências dos Alimentos). Universidade de São Paulo, São Paulo, 2008.
- [95] ARAÚJO, J. R.; GONÇALVES, P.; MARTEL, F. Chemopreventive effect of dietary polyphenols in colorectal cancer cell lines. **Nutrition Research**, v. 31, p. 77-87, 2011.
- [96] SOUSA, C. M. M.; SILVA, H. R.; VIEIRA-JUNIOR, 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, p. 351-355, 2007.
- [97] SILVA, M.L.C.; COSTA, R. S.; SANTANA, A. S.; KOBLITZ, M. G. B. Compostos fenólicos, carotenóides e atividade antioxidante em produtos vegetais. **Semina: Ciência Agrária**, v. 31, p. 669-682, 2010.
- [98] ROCHA, M. S. **Compostos bioativos e atividade antioxidante (in vitro) de frutos do cerrado piauiense**. 2011. 93 f. Dissertação (Mestrado em Alimentos e Nutrição). Universidade Federal do Piauí, Teresina, 2011.
- [99] POMPEU, D. R. **Adsorção de três famílias de compostos fenolicos em resinas sintéticas macroporosas**. 2007, 74 f. Dissertação (Mestrado em Ciência e Tecnologia de Alimentos). Universidade Federal do Pará, Belém, 2007.
- [100] BIRT, D. F.; HENDRICH, S.; WANG, W. Dietary agents in cancer prevention: flavonoids and isoflavonoids. **Pharmacology & Therapeutics**, v. 90, p. 157-177, 2001.

- 
- [101] RAMOS, L. A.; CAVALHEIRO, C. C. S.; CARVALHO, E. T. G. Determinação de nitrito em águas utilizando extrato de flores. **Química Nova**, v. 29, p. 1114-1120, 2006.
- [102] TREVISAN, M. G.; POPPI, R. J. Química analítica de processos. **Química Nova**, v. 29, p. 1065-1071, 2006.
- [103] ROCHA, F. R. P.; TEIXEIRA, L. S. G. Estratégias para aumento de sensibilidade em espectrofotometria UV-VIS. **Química Nova**, v. 27, p. 807-812, 2004.
- [104] ALVES, L. D. S.; ROLIM, L. A.; FONTES, D. A. F.; ROLIM-NETO, P. J.; SOARES, M. F. R.; SOARES-SOBRINHO, J. L. Desenvolvimento de método analítico para quantificação do Efavirenz por espectrofotometria no UV-VIS. **Química Nova**, v. 33, p. 1967-1972, 2010.
- [105] CLIMATEMPO. Disponível em: <<http://www.climatempo.com.br/climatologia/919/itirucu-ba>>. Acesso em: 6 de setembro de 2015.
- [106] ASSOCIATION OF OFFICIAL ANALYTICAL CHEMISTS. **Official methods of analysis of AOAC international**. 17 ed. Gaithersburg: AOAC International, 2000.
- [107] KAMINSKI, T. A.; DA SILVA, L. P.; BAGETTI, M. Composição centesimal e mineral de diferentes formulações de multimisturas provenientes da região central do Rio Grande do Sul. **Revista do Instituto Adolfo Lutz**, 65, 186-193, 2006.
- [108] SAUTHIER, M. C. S. **Avaliação da composição química (centesimal e mineral) da fruta atemóia**. 2012. 85f. Dissertação (Mestrado em Química). Universidade do Estado da Bahia, Salvador, 2012.
- [109] SINGLETON, V. L.; ROSSI JUNIOR, J. A. Colorimetry of Total Phenolics with Phosphomolybdic-Phosphotungstic Acid Reagents. **American Journal Enology and Viticulture**, v. 16, p. 144-158, 1965.
- [110] ARAÚJO, C. R. R.; SILVA, T. M.; VILLELA, M. L. P.; ALCÂNTARA, A. F. C.; DESSIMONI-PINTO, N. A. V. Total antioxidant capacity, total phenolic content and mineral elements in the fruit peel of *Myrciaria cauliflora*. **Brazilian Journal Food of Technology**, v. 16, p. 301-309, 2013.
- [111] WOISKY, R. G.; SALATINO A. Analysis of propolis: some parameters and procedures for chemical quality control. **Journal of Apicultural Research**, v. 37, p. 99-105, 1998.
- [112] FAN, R.; LI, N.; JIANG, X.; YUAN, F.; GAO, Y. HPLC–DAD–MS/MS identification and HPLC–ABTS on-line antioxidant activity evaluation of bioactive compounds in liquorice (*Glycyrrhiza uralensis* Fisch.) extract. **European Food Research and Technology**, v. 240, p. 1035-1048, 2015.

---

[113] KRUG, F. J. **Métodos de preparo de amostras; fundamentos sobre preparo de amostras orgânicas e inorgânicas para análise elementar**, 1ª edição revisada, Piracicaba: CENA-USP, 2010. 340 p.

[114] FERREIRA, S. L. C.; SILVA, L. O. B.; SANTANA, F. A.; SILVA-JUNIOR, M. M. S.; MATOS, G. D.; SANTOS, W. N. L. A review of reflux systems using cold finger for sample preparation in the determination of volatile elements. **Microchemical Journal**, v. 106, p. 307-310, 2013.

[115] BARROS NETO, B.; SCARMINIO, I. S.; BRUNS, R. E. **Como fazer experimentos: pesquisa e desenvolvimento na ciência e na indústria**. 4ª ed., Porto Alegre: Bookman, 2010. 414 p.

[116] GROTTI, M.; LEARDI, R.; FRACHE, R. Combined effects of inorganic acids in inductively coupled plasma optical emission spectrometry. **Spectrochimica Acta Part B**, 57, 1915-192, 2002.

[117] TODOLÍ, J. L.; MERMET, J. M. Acid interferences in atomic spectrometry: analyte signal effects and subsequent reduction. **Spectrochimica Acta Part B**, 54, 895-929, 1999.

[118] ARAÚJO, G. C. L.; GONZALEZ, M. H.; FERREIRA, A. G.; NOGUEIRA, A. R. A.; NÓBREGA, J. A. Effect of acid concentration on closed-vessel microwave-assisted digestion of plant materials. **Spectrochimica Acta Part B**, v. 57, p. 2121-2132, 2002.

[119] THOMPSON, M.; ELLISON, S. L. R.; WOOD, R. Harmonized guidelines for single laboratory validation of methods of analysis - (IUPAC technical report). **Pure and Applied Chemistry**, v. 74, p.835-855, 2002.

[120] TURNER, D. W.; LAHAV, E. Temperature influences nutrient absorption and uptake rates of bananas grown in controlled environments. **Scientia Horticulturae**, v. 26, p. 311–322, 1985.

[121] GODOY, L. J. G.; GOÇALO, S. G.; MENDONÇA, J. C.; BERNARDO, A. Variação sazonal da concentração de nutrientes em folhas de bananeiras, no Vale do Ribeira-SP. **Semina: Ciências Agrárias**, v. 33, p. 1367–1380, 2012.

[122] MALAVOLTA, E. **Manual de nutrição mineral de plantas**. São Paulo: Ed. Agronômica Ceres, 2006, 638 p.

[123] PONNAMPERUMA, F.N. The chemistry of submerged soils. **Advances in Agronomy**, v. 24, p. 29-96, 1972.

[124] GOBBO-NETO, L.; LOPES, N. P. Plantas medicinais: fatores de influência no conteúdo de metabólitos secundários. **Química Nova**, v. 30, p. 374-381, 2007.

[125] **Tabela brasileira de composição de alimentos (TACO) / NEPA – UNICAMP**. 4. ed. revisada e ampliada. Campinas: NEPA-UNICAMP, 161 p, 2011.



- 
- [126] SANTOS, A. M. P.; LIMA, J. S.; ANUNCIACÃO, D. S.; SOUZA, A. S.; SANTOS, D. C. M. B.; MATOS, G. D. Determination and evaluation employing multivariate analysis of the mineral composition of broccoli (*Brassica oleracea* L. var. *Italica*). **Food Analytical Methods**, v. 6, p. 745–752, 2013.
- [127] ANUNCIACÃO, D. S.; LEÃO, D. J.; JESUS, R. M.; FERREIRA, S. L. C. Use of multivariate analysis techniques for evaluation of analytical data-determination of the mineral composition of cabbage (*Brassica oleracea*). **Food Analytical Methods**, v. 4, p. 284–292, 2011.
- [128] Food and Drug Administration (F.D.A). Nutrient content claims for “good source,” “high,” and “more.” Code of Federal Regulations, Section 101.54, Title 21, pp. 84-85, 1993.
- [129] MILLER-IHLI, N. J. Atomic absorption and atomic emission spectrometry for the determination of the trace element content of selected fruits consumed in the United States. **Journal of Food Composition and Analysis**, v. 9, p. 301-311, 1996.
- [130] PEREIRA, R. C. A.; SANTOS, O. G. S. **Plantas condimentares: cultivo e utilização**. Fortaleza: Embrapa Agroindústria Tropical, 2013. 55 p.
- [131] MARTINS, E. R.; CASTRO, D. M.; CASTELLANI, D. C.; DIAS, J. E. **Plantas medicinais**. Viçosa: Ed. UFV, 2003. 220 p.
- [132] ACOSTA-ESTRADA, B. A.; GUTIÉRREZ-URIBE, J. A.; SERNA-SALDÍVAR, S. O. Bound phenolics in foods, a review. **Food Chemistry**, v. 152, p. 46-55, 2014.
- [133] ARBOS, K. A.; FREITAS, R. J. S.; STERTZ, S. C.; DORNAS, M. F. Atividade antioxidante e teor de fenólicos totais em hortaliças orgânicas e convencionais. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v. 30, p.501-506, 2010.
- [134] LIANDA, R. L. P. **Perfil de substâncias fenólicas de méis brasileiros por cromatografia líquida de alta eficiência e avaliação do potencial antioxidante**. 2009. 156 f. Tese (Doutorado em Química) – Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, Seropédica. 2009.
- [135] BOBBIO, P. A.; BOBBIO, F. O. **Química do processamento de alimentos**. 2 ed. São Paulo: Varela, 1995. 151 p.
- [136] MARINOVA, D.; RIBAROVA, F.; ATANASSOVA, M. Total phenolics and total flavonoids in Bulgarian fruits and vegetables. **Journal of the University of Chemical Technology and Metallurgy**, v. 40, p.255-260, 2005.