

PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM PRODUÇÃO VEGETAL

Iago Thomaz do Rosário Vieira

**Monitoramento de flavonoides totais e rutina em frutos de fava-d'anta
(*Dimorphandra mollis* Benth.)**

Montes Claros

2018

Iago Thomaz do Rosário Vieira

**Monitoramento de flavonoides totais e rutina em frutos de fava-d'anta
(*Dimorphandra mollis* Benth.)**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Produção Vegetal da Universidade Federal de Minas Gerais, como requisito parcial para a obtenção do título de Mestre em Produção Vegetal.

Orientador: Ernane Ronie Martins

Montes Claros
Fevereiro de 2018

Vieira, Iago Thomaz do Rosario.

V657m 2018 Monitoramento de flavonoides totais e rutina em frutos de fava-d'anta (*Dimorphandramollis*Benth.) / João Sousa Nobre. Montes Claros, 2018. 95 f.: il.

Dissertação (Mestrado em Produção Vegetal) Universidade Federal de Minas Gerais / Instituto de Ciências Agrárias, 2018.

Orientador: Prof. Ernane Ronie Martins.

Banca examinadora: Clivia Carolina Fiorilo Possobom, Francine Alves Souza da Fonseca, Jordany Aparecida de Oliveira Gomes.

Referências: f: 90-94.

1. Plantas medicinais. 2. CLAE. 3. Estágio de maturação. I. Martins, Ernane Ronie. II. Instituto de Ciências Agrárias da Universidade Federal de Minas Gerais. III. Título.

CDU: 633.88

Iago Thomaz do Rosário Vieira

**Monitoramento de flavonoides totais e rutina em frutos de fava-d'anta
(*Dimorphandra mollis* Benth.)**

Aprovado pela banca examinadora constituída pelos professores:

Profa. Dra. Clivia Carolina Fiorilo Possobom

Profa. Dra. Francine Alves Souza da Fonseca

Dra. Jordany Aparecida de Oliveira Gomes

Prof. Dr. Ernane Ronie Martins - Orientador

Montes Claros, 28 de fevereiro de 2018.

AGRADECIMENTOS

Primeiramente a Deus pela vida e oportunidades que me permitiram chegar até aqui.

À minha mãe, pelo amor, dedicação e pelos ensinamentos.

À Agda, pelo incentivo, compreensão e amor em todos esses anos.

Ao meu orientador, Professor Ernane, pelas oportunidades e conselho em momentos difíceis de minha vida. Certamente é uma pessoa exemplo tanto no âmbito profissional quanto no pessoal.

À Francine, pela confiança, sabedoria e amizade. É também um exemplo de pessoa a ser seguido.

À Profa. Dra. Clivia Carolina Fiorilo Possobom e Dra. Jordany Aparecida de Oliveira Gomes por compor a banca de defesa e fazer suas contribuições científicas de grande importância.

Aos meus amigos, pelo companheirismo e por compartilhar experiências e sabedoria.

Aos colegas do PET-Agronomia, pela paciência, parceria e pelo aprendizado.

Aos servidores e funcionários, por manterem o ambiente de trabalho em condições adequadas e por colaborarem com a pesquisa em todas as etapas.

A todos os professores e servidores, envolvidos com o Programa de Pós-graduação em Fisiologia vegetal, que contribuíram para minha formação acadêmica e profissional.

Ao ICA/UFMG, à FAPEMIG, ao SESU-PET, à CAPES e ao CNPq pela bolsa, recursos financeiros e pela estrutura física para desenvolver a pesquisa.

Agradeço a todos que contribuíram para o sucesso desta etapa.

Obrigado!

“Não tenha medo dos dias mais tristes de sua vida, aproveite a oportunidade para escrever os capítulos mais importantes da sua história.”

Augusto Cury

RESUMO

Monitoramento de flavonoides totais e rutina em frutos de fava-d'anta (*Dimorphandra mollis* Benth.)

A fava d'anta (*Dimorphandra mollis* Benth) é uma espécie do Cerrado e, por suas inúmeras potencialidades fitoquímicas, possui alto potencial econômico. O fruto tem importância econômica, pois é de onde a indústria extrai princípios ativos como rutina, quercetina e ramnose, usados na fabricação de medicamentos e cosméticos. O ponto de colheita de plantas medicinais varia de acordo com o órgão da planta, estágio de desenvolvimento, época do ano e hora do dia. A determinação do melhor período de colheita permite o máximo aproveitamento pós-colheita do produto vegetal, por apresentar melhor qualidade dos compostos de interesse, sem o mínimo de perdas. Assim, objetivou-se avaliar a influência da época de coleta dos frutos e folhas de fava-d'anta sobre o teor de flavonoides totais e de rutina nos frutos. As coletas foram realizadas na zona rural do município de Montes Claros-MG. Realizaram-se cinco coletas, no período final de maturação dos frutos (0, 7, 14, 21, 28 dias), com intervalos de 7 dias e as épocas de 0, 7 e 14 dias apresentaram frutos ainda com coloração verde. Ao 21 dias, foram observados frutos marrons e outros verdes. No 28º dia, todos os frutos tinham coloração marrom. O estudo foi conduzido em delineamento em blocos casualizados. Foram selecionadas 10 árvores em produção, sendo coletados frutos e folhas em cada época de coleta. Para análises morfológicas, o comprimento, a largura e a espessura dos frutos foram mensurados. Foram determinados a matéria seca e o teor de umidade dos frutos. Folhas e frutos foram submetidos à análise de flavonoides totais, e o teor de rutina foi analisado em frutos por CLAE. Os dados obtidos foram submetidos à análise de variância e, quando significativo o teste F, foram ajustadas equações de regressão para as variáveis, em função das épocas de coleta. O comprimento, a espessura e a largura do fruto não foram influenciados pela época de coleta dos frutos, assim como o teor de flavonoides, por espectrofotometria, no fruto e na folha. Para as características peso seco e umidade, o comportamento foi quadrático. O teor de rutina analisado por CLAE no fruto diferiu estatisticamente, sendo a primeira época com o maior teor médio de 14,3%. Conclui-se que as épocas de coleta avaliadas não influenciam o teor de flavonoides totais de fava-d'anta, entretanto há maior teor de rutina quando os frutos estão verdes.

Palavras chave: Plantas medicinais, CLAE, estágio de maturação.

ABSTRACT

Monitoring of total flavonoids and rutine in fava-d'anta's fruits (*Dimorphandra mollis* Benth.)

The fava d'anta (*Dimorphandra mollis* Benth) is a Cerrado species and, due to its innumerable phytochemical potentialities, has a high economic potential. The fruit has economic importance because it is from where the industry extracts active principles such as rutine, quercetin, and rhamnose, used in the manufacture of medicines and cosmetics. The collection point of medicinal plants varies according to the organ of the plant, stage of development, time of year and time of day. The determination of the best harvesting period allows the maximum post-harvest use of the vegetal product because it presents better quality of the compounds of interest without the minimum losses. Thus, the objective of this study was to evaluate the influence of the harvesting period of the fruits and leaves of fava-d'anta on the total flavonoids and of rutine in the fruits. The collections were carried out in the rural area of the city of Montes Claros-MG. Five collections were made in the final maturation period of the fruits (0, 7, 14, 21, 28 days), with intervals of 7 days, being that the season 0, 7 and 14 days, presented fruits still with green coloration. At 21 days brown and other green fruits were observed. On the 28th day all the fruits had brown coloration. The study was conducted in a randomized complete block design. Ten trees in production were selected, and fruits and leaves were collected in each collection season. For morphological analyzes, the length, width and the thickness of the fruits were measured. The dry matter and the moisture content of the fruits were determined. Leaves and fruits were submitted to the analysis of total flavonoids and the rutine content was analyzed in fruits by HPLC. The data obtained were submitted to analysis of variance and, when significant the F test were adjusted, regression equations for the variables, as a function of collection times. The length, thickness and width of the fruit were not influenced by the time of fruit collection, as well as the flavonoid content, by spectrophotometry, in the fruit and leaf. For the characteristics dry weight and humidity, the behavior was quadratic. The rutine content analyzed by HPLC in the fruit differed statistically, being the first season with the highest average OF 14,3It is concluded that the collection times evaluated do not influence the total flavonoid content of fava-d'anta, however, there is a higher rutine content when the fruits are green.

Keywords: Medicinal plants, HPLC, maturation stage.

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

FIGURA1 - Estrutura química dos flavonoides	16
FIGURA 2 - Estrutura química da Rutina	17
FIGURA 3 - Curva de calibração de padrão rutina, para teor de flavonoides totais em cinco épocas de coletas de fruto de fava-d'anta (<i>Dimorphandra mollis</i> Benth.)	40
FIGURA 4 - Curva de calibração de padrão rutina, para determinação de rutina por CLAE, em frutos de fava-d'anta (<i>Dimorphandra mollis</i> Benth.).....	40

LISTA DE ILUSTRAÇÕES DO ARTIGO

FIGURA 1- Peso seco de frutos de fava-d'anta (<i>Dimorphandra mollis</i> Benth.) em cinco épocas de coleta em Montes Claros-MG, Brasil.	29
FIGURA 2 - Umidade de frutos de fava-d'anta (<i>Dimorphandra mollis</i> Benth.) em cinco épocas de coleta em Montes Claros-MG, Brasil.	30
FIGURA 3 - Frutos de <i>Dimorphandra mollis</i> Benth.. A: 0 DACM. B: 28 DACM.	31
FIGURA 4 - Frutos de <i>Dimorphandra mollis</i> Benth.. A: 0 DACM. B: 28 DACM.	32
FIGURA 5 - Cromatogramas do extrato do fruto de fava-d'anta (<i>Dimorphandra mollis</i> Benth.) e espectros de UV de rutina, em solução de metanol 70% em cinco épocas de coleta. A: Cromatograma do padrão de rutina (Merk) na concentração de 80ppm. TR= 20,68. B: 0 DACM. TR= 20,70. D: 14 DACM. TR= 20,70. E: 21 DACM. TR= 20,70. F: 28 DACM. TR= 20,70.	34

LISTA DE TABELAS

TABELA 1- Dados climatológicos do período de 21/junho a 25/julho de 2017, no município de Montes Claros-MG, Brasil.	29
TABELA 2 - Teor de flavonoides totais em fruto e folhas de fava-d'anta (<i>Dimorphandra mollis</i> Benth.), coletado no município de Montes Claros-MG, Brasil em cinco épocas de coletas..	30

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	12
2 OBJETIVO	13
2.1 Objetivo geral	13
2.2 Objetivos específicos	13
3 REFERENCIAL TEÓRICO	14
3.1 Importância da espécie	14
3.2 Fava d'anta (<i>Dimorphandra mollis</i> Benth.)	14
3.3 Flavonoides	15
3.3.1 Rutina	16
3.3.2 Fatores que influenciam a produção de flavonoides	17
REFERÊNCIAS	19
4 ARTIGO	24
ANEXOS	39

1 INTRODUÇÃO

O Cerrado possui grande diversidade de plantas medicinais e, dentre elas, destaca-se a fava d'anta (*Dimorphandra mollis* Benth.), uma planta de porte arbóreo, com alto potencial econômico que possui inúmeras potencialidades medicinais. Segundo Mendes *et al.* (2005), seus frutos são ricos em flavonoides, como rutina, quercetina e o açúcar ramnose, dentre outros. Os flavonoides são utilizados, principalmente, no desenvolvimento e fabricação de medicamentos e cosméticos.

A rutina pertence à classe das vitaminas P e possui propriedades de interesse, para a indústria farmacêutica e de cosméticos, entre elas, tonificar e aumentar a resistência dos vasos capilares, diminuição da permeabilidade dos glóbulos vermelhos, regular a absorção de nutrientes e, especialmente, a absorção e funcionamento da vitamina C, entre outros (MENDES *et al.* 2005).

Segundo Abiquifi (2015), a comercialização de quercetina de janeiro a junho de 2015 gerou renda maior que 1,7 milhões de dólares, e as exportações de rutina, no mesmo período, atingiram valor de 2,1 milhões de dólares. A demanda de rutina está sendo atendida em apenas 60% de sua totalidade, evidenciando uma tendência de expansão do mercado mundial do produto (GOMES; GOMES, 2000).

Antes vistos como compostos de resíduos, alguns metabólitos secundários passaram a serem vistos como commodities (BRISKIN, 2000; LAIRD; KATE, 2002). O entendimento do metabolismo secundário em plantas resultou das pesquisas que visavam ao aumento da produção de compostos desejados para usos medicinais, aromáticos e culinários (MARCHESE *et al.* 2009).

O ponto de colheita varia de acordo com o órgão da planta, estágio de desenvolvimento, época do ano e hora do dia (SANTOS *et al.* 2008). Assim, o ponto de colheita se torna aspecto fundamental, para estudos com plantas medicinais, pois a determinação do melhor período de colheita permite o máximo aproveitamento do produto vegetal por apresentar melhor qualidade e o mínimo de perdas dos compostos de interesse (ANDRADE; CASALI, 1999).

Em razão do potencial econômico e medicinal da fava-d'anta e da necessidade de informações referentes à época de coleta dos frutos, objetivou-se avaliar a influência da época de coleta dos frutos e folhas de fava-d'anta sobre o teor de flavonoides e teor de rutina nos frutos.

2 OBJETIVO

2.1 Objetivo geral

- Avaliar a influência da época de coleta dos frutos e folhas de fava-d'anta sobre o teor de flavonoides totais e teor de rutina nos frutos.
-

2.2 Objetivos específicos

- Avaliar características de frutos em cinco épocas de coleta: comprimento, largura, peso seco.
- Determinar o teor de flavonoides totais e identificar quais flavonoides estão em cinco épocas de coleta do fruto.
- Correlacionar fatores climatológicos com o teor de flavonoides e rutina nos frutos.

3 REFERENCIAL TEÓRICO

3.1 Importância da espécie

Segundo Merck (2006), o uso medicinal da fava d'anta (*Dimorphandra mollis* Benth.) está associado à presença no seu mesocarpo de 6 e 30% de rutina (quercetina-3-rutinosídeo), glicosídeo flavônico, que contém hesperidina e eiodictina incluídos no grupo dos bioflavonoides. A rutina, a quercetina, a isoquercetina e a ramnose são os compostos extraídos da fava d'anta de principal interesse. O produto de maior destaque é a rutina, comercializada em até 18 países, entretanto também são comercializadas a isoquercetina e a ramnose (MERCK, 2006).

O estado do Maranhão está em primeiro lugar, na produção de rutina, contribuindo com 30%, seguido por Piauí (28%) e Minas Gerais (23%). Montes Claros, Mirabela, Japonvar, Francisco Sá, Jequitaiá, Lontra, Patis e Brasília de Minas são municípios de destaque na região Norte do estado, onde a produção é explorada e comercializada em maior quantidade (DÔRES, 2007).

A importância da espécie, para a indústria farmacêutica, está na atividade antioxidante da rutina. Yang, Guo e Yuan (2008) demonstraram em estudo o potencial redutor, estabilizando espécies reativas de oxigênio. É atribuída à rutina a eficácia no tratamento da artrite e atividade anti-câncer (HAN, 2009), efeito anticonvulsivo em ratos (NASSIRI-ASL, SHARIATI-RAD, ZAMANSOLTANI, 2008), antitumoral (WOO; JEONG; HAVEZ, 2005), anti-inflamatório, antialérgico, vasoativo, antibacteriano, antiviral, antiprotozoário (CALABRÓ *et al.* 2005) e, ainda, é utilizada como hipolipidêmica, citoprotetora, antiespasmódica e anticarcinogênica (MAULUDIN; MULLER; KECK, 2009).

3.2 Fava d'anta (*Dimorphandra mollis* Benth.)

A fava-d'anta (*Dimorphandra mollis* Benth.) da família Fabaceae é nativa do Cerrado. Em outras regiões pode ser conhecida popularmente por favela, falso-barbatimão, canafístula, cinzeiro, farinheiro ou faveira (LORENZI, 2002).

Encontrada no Cerrado de Minas Gerais, São Paulo, Goiás, Mato Grosso e Mato Grosso do Sul (LORENZI, 2008; PACHECO *et al.* 2010), possui porte médio e pode ser encontrada em solos argilosos ou arenosos e em locais com altitude que variam entre 500 e 1700 metros (GONÇALVES *et al.* 2010). Sua altura varia de 8 a 14 metros, com tronco de 30 a 50cm de diâmetro, identifica-se por ser uma espécie perene de porte médio, possui copa alta e rala. As folhas são alternas e bipenadas, contendo de 6 a 14 pares de pinas e medindo de 8 a 11 cm de comprimento (LORENZI, 2008; LORENZI; MATOS, 2002). ALMEIDA *et al.* (1988) identificaram que sua inflorescência possui espigas cilíndricas na sua terminação, somando mais de 500 flores. As flores são hermafroditas, actinomorfas, sésseis e têm, aproximadamente, 3 mm de comprimento, a coloração das flores varia do branco ao creme (LORENZI, 2002; LORENZI, 2008).

Os frutos são legumes indeiscentes, achatados, lenhosos, de superfície irregular, rugosos, de coloração marrom, medindo entre 16 e 26cm de comprimento, com mesocarpo farináceo adocicado, porém de sabor desagradável (DÔRES, 2007; LORENZI, 2008). Podem ser observadas até 20 sementes de coloração castanho-avermelhadas dentro de um fruto (FERREIRA *et al.* 2001; LORENZI, 2008).

Relatos de Pereira (2006) e Nunes *et al.* (2012) indicam que a maturação dos frutos é de abril a julho, com pico de produção em junho. Santos (2006) observou que, para obtenção de sementes, o ideal é que ocorra a colheita do frutos diretamente da árvore e, posteriormente, secá-los ao sol, para facilitar a abertura manual e a liberação das sementes.

A coleta dos frutos é realizada por populações extrativistas, sendo os frutos coletados antes da maturação. Essa prática prejudica a sobrevivência da espécie, uma vez que a formação das sementes é interrompida e, na maior parte das vezes, é retirada de seu ambiente nativo (MENDES DE PAULA *et al.* 2007).

3.3 Flavonoides

Segundo Huber e Rodriguez-Amaya (2008), os flavonoides (Figura 1) são metabolitos secundários biossintetizados derivados da fenilalanina e do ácido acético, sendo o ácido chiquímico o precursor da fenilalanina (KARAM *et al.* 2013).

Entre os produtos de origem natural, os flavonoides são o grupo fenólico de maior diversidade e estão difundidos por toda a natureza. Eles são componentes de vários alimentos que estão presentes na dieta humana, como vegetais e frutas (YANG; GUO; YUAN, 2008), além de bebidas como chás e vinhos (BECHO; MACHADO; GUERRA, 2009). Estes alimentos são ditos funcionais, ou seja, são alimentos que auxiliam na conservação da saúde e na prevenção de doenças, que, em parte, devem-se aos flavonoides. Eles contribuem com várias propriedades benéficas à saúde e, dentre elas, a propriedade antioxidante é uma das mais importantes.

De acordo com Soares (2013), os flavonoides são compostos polifenólicos encontrados em sementes, frutos, cascas, raízes, folhas e flores. A família, a espécie e o gênero das plantas influenciam na disposição dos flavonoides, podendo apresentar diferenças estruturais do mesmo tipo de flavonoides em diferentes órgãos da planta. Com isso, o mesmo flavonoide pode ser encontrado em diferentes órgãos com teores variados (MACHADO *et al.* 2008). Machado (2005) relata que diversos fatores abióticos naturais como radiação solar, raios UV, períodos de seca ou chuva, disponibilidade de nutrientes e estações do ano, também, provocam mudanças no metabolismo e na produção de diversos flavonoides. Degaspari (2004) acrescenta que fatores artificiais também podem influenciar na produção de flavonoides, por exemplo, alguns poluentes.

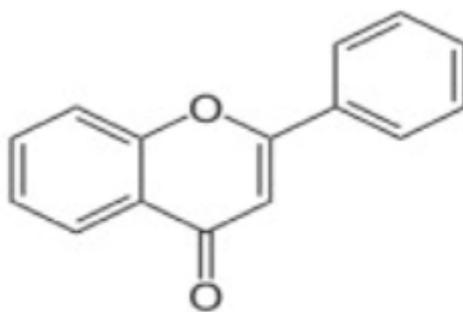
Benefícios associados aos flavonoides nos vegetais despertaram grande interesse de pesquisadores. Diversas funções são atribuídas aos flavonoides nas plantas. É responsável pela pigmentação em frutas, flores, sementes e folhas, têm importante função de sinalização entre plantas e micróbios, na fertilidade de algumas espécies de vegetais (HUBER E RODRIGUEZ-AMAYA, 2008), na proteção contra a incidências de raios UV, na proteção contra microrganismos

patogênicos, além de ação antioxidante e alopática e inibição enzimática (MACHADO *et al.* 2008).

Os flavonoides, presentes em produtos naturais, estão sendo utilizados na medicina tradicional, para o tratamento de diabetes, sendo uma alternativa possível para o controle dessa doença (GUERRA *et al.* 2009).

Em estudo realizado por Silva (2007), a rutina atuou de forma benéfica contra hemorragias no tratamento preventivo de trombose. Estimulante da circulação, esse composto é utilizado em mesoterapia e intradermatoterapia nos tratamentos contra celulite. Auxilia no preparo de cirurgias em pacientes com icterícia.

FIGURA1 - Estrutura química dos flavonoides



Fonte: Adaptado de Masek, Zaborski e Kosmalka (2011).

3.3.1 Rutina

A rutina (Figura 2) e seus derivados representam cerca de 95% do total dos flavonoides ingeridos a partir do alimento, estando presentes em quantidades significativas (ARAÚJO, 2012). Entre os vegetais, destacam-se os frutos do *Dimorphandra mollis* Benth., *Fagopyrum esculentum* e *Sophora japonica* L. (HUBER; RODRIGUE-AMAYA, 2008).

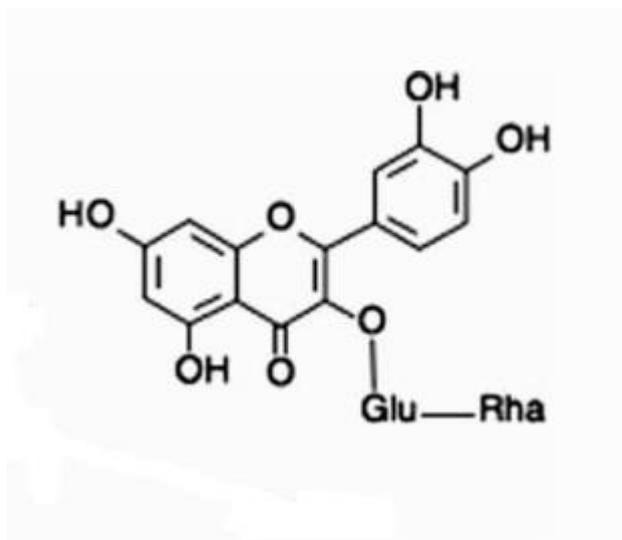
Frazoi *et al.* (2008) relatam que a rutina possui vasto espectro de atividades biológicas e farmacológicas como antioxidante, antiviral, antitumoral, anti-inflamatória e antialérgica, Araújo (2012) cita também atividades citoprotetora, vasoprotetora, antiproliferativa, antitrombótica e cardioprotetora.

Diversos estudos estão sendo realizados por pesquisadores, a fim de avaliar os aspectos de produção da espécie, para melhor conhecimento dos fatores que afetam o teor flavonoides no fruto.

Pacientes com histórico de insuficiência venosa e fragilidade capilar relatam melhoras dos sintomas de dor, queimação, sensação de peso e cansaço nas pernas, com a ingestão de rutina.

Essa melhora se deve à normalização da resistência e permeabilidade da parede dos vasos, que possivelmente estão ligados com algumas doenças hemorrágicas ou hipertensão (RASO *et al.* 2009). De acordo com Pedriali *et al.* (2005), baixa solubilidade dos flavonoides em água é um fator limitante, que reduz a biodisponibilidade da rutina quando esta se encontra no organismo humano.

FIGURA 2 - Estrutura química da Rutina



Fonte: Adaptado de Lucci e Massafra (2009).

3.3.2 Fatores que influenciam a produção de flavonoides

Importantes componentes da alimentação dos seres humanos, os flavonoides estão presentes em frutas, hortaliças, sementes, flores e em seus produtos derivados. Os flavonoides são encontrados em vegetais, sendo constituintes da dieta humana. Diversos fatores influenciam a qualidade dos compostos das plantas, tais como: variações climáticas, solo, época de colheita, características genéticas da planta, condições de secagem e tempo de armazenamento (BARBOSA *et al.* 2006).

Os flavonoides podem variar entre as diferentes espécies empregadas na alimentação. Assim, em estudo realizado por Franke *et al.* (2004), utilizando 50 amostras de vegetais, abrangendo grande diversidade de frutas, hortaliças e alguns derivados, consumidos no Hawaii, encontraram concentrações de quercetina diversas ($<0,2-238 \mu\text{g g}^{-1}$), sendo o flavonoide mais comumente encontrado. A cebola foi o vegetal estudado que apresentou maiores teores ($238 \mu\text{g g}^{-1}$).

A época do ano pode influenciar no teor de flavonoides em hortaliças e outros produtos agrícolas. Em estudo com *Dimorphandra mollis* Benth., realizado por Macedo *et al.* (2004), o intervalo entre a primeira e a terceira época de coleta foi de 52 dias; a primeira época de coleta dos frutos, em que os frutos estavam com coloração verde, conteve maior quantidade de

flavonoides totais, em relação à terceira época de coleta dos frutos, em que os frutos estavam com coloração marrom.

No Brasil, Arabbi *et al.* (2004) quantificaram os flavonoides presentes em almeirão, rúcula e alface lisa e encontraram níveis bem maiores, no segundo semestre de 2001, quando comparados ao primeiro semestre de 2002. Em estudo com margarida, Siatka e Kasparová (2003) observaram que o teor de flavonoides varia consideravelmente durante o ano, sendo o menor teor em março, aumentando gradualmente até agosto e diminuindo novamente. Coletadas de guabiroba, na primavera, apresentaram maiores teores de flavanonas e chalconas que as coletas realizadas no verão e outono (COUTINHO *et al.* 2010). Plantas de carqueja cultivadas e silvestres apresentaram maior teor de flavonoides em estação chuvosa do ano, em comparação com estações secas (SILVA *et al.* 2006).

Entre os fatores que afetam a produção de flavonoides, a luz tem grande importância. Gliszczynska-Swiglo *et al.* (2007) estudaram a cultura do brócolis e concluíram que os teores de flavonóis estão correlacionados positivamente com a radiação UV em todos os estágios da cultura.

O estágio de desenvolvimento, também, pode influenciar o teor de flavonoides, especialmente no caso dos frutos. Hu *et al.* (2018) observaram uma diminuição dos teores de flavonoides, na polpa de manga, durante o amadurecimento. Corrales-Bernal *et al.* (2014), também, relataram que a manga verde tem 45% a mais de flavonoides do que a manga madura. Em morangos, as concentrações de polifenóis e flavonoides são maiores, quando os frutos estão verdes e diminuem no decorrer do amadurecimento (Cheng e Breen, 1991; Wang e Lin, 2000). Griesser *et al.* (2008) encontraram maiores teores de quercetina e kaempferol em frutos verdes de morango e seus níveis diminuíram no decorrer do desenvolvimento do fruto.

REFERÊNCIAS

- ABIQUIFI. 2015. **Exportações do interesse do setor farmoquímico 2015**. Disponível na internet em: <http://abiquifi.org.br/abiquiflashes/abiquiflashes-20082015-406/>. Acesso em 26 de janeiro de 2018.
- ALMEIDA, S. P.; PROENÇA, C. E. B.; SANO, S. M.; RIBEIRO, J. F. **Cerrado: espécies vegetais úteis**. Planaltina: EMBRAPA-CPAC, 1988. 464 p.
- ALVES, A. M. P.; Alves E. P. B.; Buttow, N. C.; Perles, J. V. C. M.; Zanoni, J. N.; Stabile, S. R. Aspectos gerais e abordagem terapêutica da quercetina sobre as complicações do diabetes causadas pelo estresse oxidativo. **Arq. Ciênc. Saúde Unipar**, Umuarama, v. 14, n. 2, p. 179-186, maio/ago. 2010.
- ANDRADE, F.M.C.; CASALI, V.W.D. Colheita. In: _____. (Eds.). **Plantas medicinais e aromáticas: relação com o ambiente, colheita e metabolismo secundário**. Viçosa: UFV, Departamento de Fitotecnia, 1999. p.61.
- ARABBI, P. R.; GENOVESE, M. I.; LAJOLO, F. M. Flavonoides in vegetable foods commonly consumed in Brazil and estimated ingestion by the Brazilian population. **J. Agric. Food Chem.** v. 52, p. 1124-1131, 2004.
- ARAUJO, M.E.M.B. **Avaliação da atividade antioxidante e antiproliferativa da rutina e seus produtos obtidos por hidrólise enzimática**, 2012, 78p. Dissertação (Mestrado –Ciências da Saúde) Programa de Pós-Graduação Stricto Sensu em Ciências da Saúde, Universidade São Francisco, São Paulo.
- BARBOSA, W. L. R.; PERES, A.; GALLORI, S.; VINCIERI, S. S. Determination of myricetin derivatives in *Chrysobalanus icaco* L. (*Chrysobalanaceae*). **Braz. J. Pharmacogn.** 16. 333-337. 2006.
- BECHO, J. R. M.; MACHADO, H.; GUERRA, M. O. Rutina – estrutura, metabolismo e potencial farmacológico. **Revista Interdisciplinar de Estudos Experimentais**. v. 1, n. 1, p. 21-25. 2009.
- BLASCO AJ, GONZALEZ MC, ESCARPA, A. Electrochemical approach for discriminating and measuring predominant flavonoids and phenolic acids using differential pulse voltammetry: towards an electrochemical index of natural antioxidants. **Anal Chim Acta 511**: 71-81. 2004.
- Briskin, D.P. Medicinal Plants and Phytomedicines. Linking Plant Biochemistry and Physiology to Human Health. **Plant Physiology**. 124. 507-514. 2000.
- CALABRÓ, M. L. *et al.* The rutin-/cyclodextrin interactions in fully aqueous solution: spectroscopic studies and biological assays. **Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis**. v. 36,p. 1019-1027. 2005.
- CORRALES-BERNAL, A.; MALDONADO, M. E.; URANGO, L. A.; FRANCO, M. C.; ROJANO, B.A. Sugar mango (*Mangifera indica*), variety from Colombia: antioxidant, nutritional and sensorial characteristics. **Rev. chil. nutr.** vol.41 no.3 Santiago Sept. 2014.
- COUTINHO, I. D.; KATAOKA, V. M. F.; HONDA, N. K.; COELHO, R. G. VIEIRA, M. C.; CARDOSO, C. A. L. Influência da variação sazonal nos teores de flavonóides e atividade antioxidante das folhas de *Campomanesia adamantium* (Cambess.) O. Berg, Myrtaceae. **Rev. Bras. Farmacogn.** 20(3): Jun./Jul. 2010.
- CUNHA, P. L. R. *et al.* Isolation and characterization of galactomannan from *Dimorphandra Gardneriana* Tul. seeds as a potential guar gum substitute. **Food Hydrocolloids**. v. 23, n. 3, p. 880-885, 2009.

CUSATI, R. C.; MANGIAVACCHI, K. M.; RODRIGUES-DAS-DORES, R. G.; DEMUNER, A. J.; MARTINS, E. R.; FINGER, F. L.; CASALI, V. W. **Teores de flavonóides de fava d'anta - *Dimorphandra mollis* (Caesalpinaceae).** In:

DEGÁSPARI, C. H.; WASZCZNSKYJ, N. Propriedades antioxidantes de compostos fenólicos. **Visão Acadêmica.** Curitiba, v. 5, n. 1, p. 33-40, 2004.

DÔRES, R. G. R. D. **Análise morfológica e fitoquímica da fava d anta (*Dimorphandra mollis* Benth.).** 2007. 375 f. Tese (Doutorado em Fitotecnia) – Universidade Federal de Viçosa. Viçosa, 2007.

FERRARI, G. N. *et al.* **Alecrim (*Rosmarinus officinalis* L.).** 1 ed. Piracicaba: ESALQ- Divisão de Biblioteca. 33p. (Série Produtor Rural 49). 2011.

FERREIRA, R. A.; BOTELHO, S. A.; DAVIDE, A. C.; MALAVASI, M. M. Morfologia de frutos, sementes, plântulas e plantas jovens de *Dimorphandra mollis* Benth. – faveira (Leguminosae-Caesalpinioideae). **Revista Brasileira de Botânica**, São Paulo, v.24, n.3, p.303-309, 2001.

FRANKE, A. A. *et al.* Vitamin C and flavonoids levels of fruits and vegetables consumed in Hawaii. **J. Food Comp. Anal.** v. 17, n. 1, p. 1-35, 2004.

FRANZOI, A. C.; SPINELLI, A.; VIEIRA, I. C., Rutin determination in pharmaceutical formulations using a carbon paste electrode modified with poly(vinylpyrrolidone). **Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis**, v. 47, p. 973-977, 2008.

GLISZCZYNSKA-SWIGLO, A. *et al.* The effect of solar radiation on the flavonol content in broccoli inflorescence, **Food Chem.** v. 100, p. 241-245, 2007.

GOMES, L. J.; GOMES, M. A. O. Extrativismo e biodiversidade: o caso da fava-d'anta. **Ciência Hoje**, São Paulo, v.27, n.161, p. 66-9, 2000.

GONÇALVES, A. C, Reis CAF, Vieira F de A, Carvalho D de. Estrutura genética espacial em populações naturais de *Dimorphandra mollis* (Fabaceae) na região Norte de Minas Gerais, Brasil. **Revista Brasileira de Botânica.** 33: 325-332. 2010.

GRIESSER, M.; HOFFMANN,T.; BELLIDO, M. L.; ROSATI, C.; FINK, B. KURTZER, R. AHARONI, A.; MUÑOZ-BLANCO, J.; SCHWAB, W. Redirection of Flavonoid Biosynthesis through the Down-Regulation of an Anthocyanidin Glucosyltransferase in Ripening Strawberry Fruit. **Plant Physiol.** Vol. 146, 2008.

GUERRA, M. O.; BECHO, J.R. M.; MACHADO, H. Rutina – estrutura, metabolismo e potencial farmacológico. **Revista Interdisciplinar de estudos experimentais**, v. 1, n. 1, p. 21-25, 2009.

HAN, Y. Rutin has therapeutic effect on septic arthritis caused by *Candida albicans*. **International Immunopharmacology.** v. 9, p. 207-211, 2009.

HU, K. DARS, A. G. LIU, Q. XIE, B. SUN, Z. Phytochemical profiling of the ripening of Chinese mango (*Mangifera indica* L.) cultivars by real-time monitoring using UPLC-ESI-QTOF-MS and its potential benefits as prebiotic ingredients. **Food Chemistry.** 256 171–180. 2018.

HUBINGER, S. Z.; CEFALI, L. C.; VELLOSO, J. C. R.; SALGADO, H. R. N.; ISAAC, V. L. B.; MOREIRA, R. R. D. *Dimorphandra mollis*: an alternative as a source of flavonoids with antioxidant action. **Latin American Journal of Pharmacy**, v. 29, n. 2, p. 271-274, 2010.

KARAM, T.K.; DALPOSSO, L.M.; CASA, D.M.; DE FREITAS, G.B.L. Carqueja (*Baccharis trimera*): utilização terapêutica e biossíntese. **Rev. Bras. Pl. Med.**, Campinas, v.15, n.2, p.280-286, 2013.

LAIRD, S.A.; KATE, K.T. Biodiversity prospecting: the commercial use of genetic resources and best practice in benefit-sharing. In: LAIRD, S. (Org.). Biodiversity and traditional knowledge: equitable partnerships in practice. London: **Earthscan Publications Ltd.**, p.241-286. 2002.

LORENZI H. **Árvores brasileiras: manual de identificação e cultivo de plantas arbóreas nativas do Brasil**. v.2. 4 ed. Nova Odessa: Editora Plantarum, 2002. 368 p.

LORENZI H. **Árvores brasileiras: manual de identificação e cultivo de plantas arbóreas nativas do Brasil**. v.1. 5 ed. Nova Odessa: Editora Plantarum, 2008. 368 p.

LORENZI, H.; MATOS, F. J. A. **Plantas medicinais no Brasil: nativas e exóticas cultivadas**. Nova Odessa: Instituto Plantarum, 2002.

LORENZI, H.; MATOS, F. J. **Plantas medicinais no Brasil: nativas e exóticas cultivadas**. 2. ed. São Paulo. Nova Odessa: Instituto Plantarum, 512p.2006.

LUCCI, N.; MAZZAFERA, P. Rutin synthase in fava d'anta: Purification and influence of stressors. **Canadian Journal of Plant Science**. v. 89, n. 5, p. 895-902, 2009.

MACEDO, E. A. S.; MENDES, A. D. R.; QUEIROZ, J. M. R. MARTINS, E. R. Influência da época de colheita, procedimento de secagem e parte do fruto no teor de flavonoides em fava d'anta (*Dimorphandra mollis* Benth.). **REV. BRAS. PL. MED.** Botucatu, v. 7, n. 1, p. 1-5, 2004.

MACHADO, H. **Atividade dos flavonoides rutina e naringina sobre o tumor ascístico de Erlich "in vivo"**. 2006. 125f. Dissertação(Mestrado) – Programa de Pós-Graduação em Bioquímica Agrícola, Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, Minas Gerais, 2005.

MACHADO H., NAGEM T.J., PETERS V.M., FONSECA C.S., OLIVEIRA T.T.D. Flavonóides e seu potencial terapêutico. **Boletim do Centro de Biologia da Reprodução**. 2008.

MAULUDIN, R.; MULLER, R. H.; KECK, C. M. Kinetic solubility and dissolution velocity of rutin nanocrystals. **European Journal of Pharmaceutical Sciences**. v. 36, p. 502-510. 2009.

MASEK, A.; ZABORSKI, M.; KOSMALSKA, A. Derivatives of flavonoides as anti-ageing substances in elastomers. **Comptes Rendus Chimie**. Volume 14, Issue 5, May. 2011.

MENDES, A.D.R.; MARTINS, E.R.; FERNANDES, L.A.; MARQUES, C.C.L. Produção de biomassa e de flavonoides totais por fava d'anta (*Dimorphandra mollis* Benth) sob diferentes níveis de fósforo em solução nutritiva. **Revista Brasileira de Plantas Medicinais**, Botucatu, v.7, n.2, p.7-11, 2005.

MENDES DE PAULA, T.O. et al. Influência do silicato no crescimento inicial e produção de flavonóides totais em *Dimorphandra mollis* Benth. **Revista Brasileira de Biociências**, v.5, n.S2, p.552-4, 2007.

MARCHESE, J.A; MING, L.C.; FRANCESCHI, L.; CAMOCHENA, R.C.; GOMES, G.D.R.; PALADINI, M.V.; CAPELIN, D.; MARCHESE, C.F. Medicinal plants used by "Passo da Ilha" rural community in the city of Pato Branco, southern. Brazil. **An. Acad. Bras. Ciênc.** 8: 691-700. 2009.

MERCK. **Microbiology Manual**. 12 th ed. Darmstadt: Merck. 2006.

NASSIRI-ALS, M.; SHARIATI-RAD, S.; ZAMANSOLTAN, F. Anticonvulsive effects of intracerebroventricular administration of the rutin in rats. **Progress in Neuro-Psychopharmacology & Biological Psychiatry**. v. 32, p. 989-993. 2008.

NUNES, J.D.*; NERY, P.S.; FIGUEIREDO, L.S.; COSTA, C.A.; MARTINS, E.R. O extrativismo da fava d'anta (*Dimorphandra mollis* Benth.) na região do Norte de Minas Gerais. **Rev. Bras. Pl. Med.** Botucatu, v.14, n.2, p.370-375, 2012.

PACHECO, M. V.; MATTEI, V. L.; MATOS, V. P.; SENA, L. H. Moura. Germination and vigor of *Dimorphandra mollis* Benth. seeds under different temperatures and substrates. **Revista Árvore**, v. 34, n. 2, p. 205-213, 2010.

PANEGASSI, V.R. et al. Potencial tecnológico do galactomanano de sementes de faveiro (*Dimorphandra mollis*) para uso na indústria de alimentos. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**. v.20, n.3, p.406-415, 2000.

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

PEREIRA, V.F. **Avaliação da capacidade de produção em áreas de coleta de *Dimorphandra mollis* Benth. no norte de Minas.** 2006. 20p. Trabalho de conclusão de curso (Bacharel em Agronomia) - Universidade Federal de Minas Gerais Instituto de Ciências Agrárias, Montes Claros.

PETACCI, F.; FREITAS, S. S.; BRUNETTI, I. L.; KHALIL, N. M. Inhibition of peroxidase activity and scavenging of reactive oxygen species by astilbin isolated from *Dimorphandra mollis* (Fabaceae, Caesalpinioideae). **Biological Research**, v. 43, n. 1, p. 63-74, 2010.

PINHEIRO. A.C.; BOURBON, A.I.; ROCHA. C.; RIBEIRO, J.M.; MAIA. M.O.; TEIXEIRA. J.A.; VICENTE. A.A. Rheological characterization of κ -carrageenan/galactomannan and xanthan/galactomannan gels: Comparison of galactomannans from non-traditional sources with conventional galactomannans. **Carbohydrate Polymeres**, v.83, n.2, pg. 392-399, 2011.

RASO, G. M.; ESPOSITO, E.; IACONO, A.; PACILIO, M.; CUZZOCREA, S.; CANANI, R. B. CALIGNANO, A.; MELI, R. Comparative therapeutic effects of metformin and vitamin E in a modelo f non-alcoholic steatohepatitis in the Young rat. **Eur. J. Pharmacol.** v. 604, p. 125-131, 2009.

RODRIGUEZ-AMAYA, D. B.; HUBER, L. S. Flavonóis e flavonas: Fontes brasileiras e fatores que influenciam a composição em alimentos. **Alim. Nutr.** Araraquara. V. 19, n. 1, p. 97-108, jan/mar, 2008.

ROSSA, U. B. **Produtividade e compostos foliares de erva-mate sob efeitos de luminosidade e fertilização.** 2013, 208f. Tese (Doutorado em Engenharia Florestal) – Universidade Federal do Paraná, Curitiba.

SANTOS, E. A. M. **Obtenção de rutina de *Dimorphandra* sp: do processamento dos frutos à obtenção de extrato enriquecido.** 2006. 78 f. Dissertação (Mestrado em Engenharia de Materiais) – Universidade Federal de Ouro Preto, Ouro Preto-MG. 2006.

SANTOS, P.O.; COSTA, M. de J.C.; ALVES, J.A.B.; NASCIMENTO, P.F.C.; DEMELO, D.L.M.; BARBOSA JR, A.; TRINDADE, R.de C. Chemical composition and antimicrobial activity of the essencialoil of *Hyptis pectinata* (L.) Poit. **Química Nova**, 37:1648-1652, 2008.

SIATKA, T.; KAŠPAROVÁ, M. Seasonal changes in the hemolytic effects of the head of *Bellis perennis* L. **Čes. Slov. Farm.** 52, 39-41. 2003.

SILVA SR. 2007. Tese de Doutorado. **Ecologia de População e Aspectos Etnobotânicos de *Dimorphandra gardneriana* Tullasne (Leguminosae-Mimosaceae) na Chapada do Araripe, Ceará-CE.** Departamento de Ecologia do Instituto de Ciências Biológicas, da Universidade de Brasília. 2007.

SILVA, Luis Felipe Costa. **Desenvolvimento de Microesferas Lipídicas Contendo Quercetina para a Administração Pulmonar Visando o Tratamento de Asma.** Dissertação submetida ao Programa de Pós-Graduação em Farmácia da Universidade Federal de Santa Catarina para obtenção do Grau de Mestre em Farmácia, 2011.

SOARES, J. J. **Avaliação da atividade antioxidante in vitro e in vivo de extratos preparados a partir das folhas de *Syzygium cumini* (L.) Skeels.** 2013. Dissertação (Mestrado em Bioquímica) – Universidade Federal do Pampa, Uruguaiiana, 2013.

TAIZ, L. ZEIGER, E. **Fisiologia Vegetal.** 5. ed. Porto Alegre: Artmed, 915p, 2013.

WOO, K.; JEONG, R. B.; HAWES, C. M. Flavonoids: from cell cycle regulation to biotechnology. **R Biotech Lett.** v. 27, p. 365-74. 2005.

YANG, J.; GUO, J.; YUAN, J. In vitro antioxidante properties of rutin. **LWT**. v. 41, p. 1060-1066. 2008.

4 ARTIGO

Monitoramento de flavonoides totais e rutina em frutos de fava-d'anta (*Dimorphandra mollis* Benth.)

Este artigo foi elaborado conforme as normas do periódico "Acta Scientiarum. Agronomy"

Monitoramento de flavonoides totais e rutina em frutos de fava-d'anta (*Dimorphandra mollis* Benth.)

VIEIRA, I. T. R. V.^{1*}; FONSECA, F. S. A.¹; MARTINS, E. R.¹. ¹ Instituto de Ciências Agrárias, Universidade Federal de Minas Gerais, Avenida Universitária, Universitário, 1000, Montes Claros, MG, Brasil; *Autor para correspondência: iago-thomaz@hotmail.com

RESUMO

Objetivou-se com este trabalho avaliar a influência da época de coleta dos frutos de fava-d'anta sobre o teor de flavonoides totais e rutina. Foram selecionadas 10 árvores em produção, sendo coletados frutos e folhas em cada época de coleta. Realizaram-se cinco coletas, no período final de maturação dos frutos, com intervalos de 7 dias. O estudo foi conduzido no delineamento em blocos casualizados. Foram mensurados o comprimento, a largura, a espessura dos frutos, o teor de flavonoides totais em folhas e frutos e análise de rutina por CLAE em frutos. Os dados obtidos foram submetidos à análise de variância e de regressão. O comprimento, a espessura e a largura dos frutos não foram influenciados pela época de coleta, assim como o teor de flavonoides totais no fruto e na folha. Para as características peso seco e umidade, o comportamento da equação foi quadrático. O teor de rutina analisado por CLAE no fruto diferiu estatisticamente, sendo a primeira época com o maior teor médio 14,3%. Conclui-se que, ao final do desenvolvimento dos frutos, a época de coleta avaliada não influencia no teor de flavonoides totais de fava-d'anta, entretanto apresenta maior teor de rutina quando os frutos estão verdes.

Palavras chave: Plantas medicinais, CLAE, estágio de maturação.

INTRODUÇÃO

O bioma Cerrado é rico em diversidade de espécies, possuindo compostos naturais com ações terapêuticas, entre eles, estão os flavonoides. Esses compostos possuem baixos efeitos colaterais (REIS, 2015).

Segundo Nunes (2010), a exploração das plantas medicinais do cerrado constitui alternativa de manutenção das populações locais, que, em razão da falta de água, da escassez de nutrientes no solo e da falta de investimento na área, passam por dificuldades para cultivar culturas de subsistência.

A espécie *Dimorphandra mollis* Benth., conhecida por fava d'anta, é nativa do Cerrado e utilizada como fonte de renda pelas populações locais. Seu fruto é rico nos flavonoides rutina e quercetina, que são utilizados pela indústria farmacêutica na preparação de medicamentos e cosméticos (DÔRES, 2007; SUDRÉ *et al.* 2011). Desse modo, a fava-d'anta possui grande potencial econômico (GIULIANO *et al.* 2005), com amplo uso em diversos segmentos da sociedade, como comunidades tradicionais, raizeiros, empresas fabricantes de essências e de aromas, laboratórios farmacêuticos, homeopáticos, indústrias alimentícias, ervanários e feiras (CALDEIRA JÚNIOR *et al.* 2008). Para a comunidade extrativista do Norte de Minas Gerais, a comercialização do fruto representa importante fonte de renda, revelando a importância econômica da espécie para região (COTA, 2017).

Os flavonoides são compostos fenólicos com estrutura baseada no 2- fenil-benzopirano, que estão distribuídos nas partes aéreas, como as flores, folhas, caules ou frutos. Possuem diversas funções na planta, como a proteção contra raios ultravioleta e visível, contra fungos, insetos, vírus e bactérias e atuam no controle dos hormônios vegetais e dos agentes alelopáticos (NUNES, 2010). Dentre os flavonoides, de acordo com Montano *et al.* (2007), a rutina tem grande importância, atuando na capacidade de aumentar a força dos capilares e regular sua permeabilidade.

A época de colheita do material vegetal de interesse é um fator essencial, para o teor de substâncias ativas, em espécies medicinais e aromáticas, pelo teor de tais compostos não serem constantes, durante o ano ou período, em que estão presentes em determinados órgãos da planta. Como exemplo, as variações sazonais no conteúdo de praticamente todas as classes de metabólitos secundários, como flavonoides (BROOKS; FEENY, 2004). Deste modo, o objetivo deste trabalho foi avaliar a influência da época de coleta dos frutos e folhas de fava-d'anta sobre o teor de flavonoides e teor de rutina nos frutos.

Material e métodos

Os frutos e folhas de *Dimorphandra mollis* Benth. foram coletados no município de Montes Claros, Minas Gerais, no período de 21/junho e 25/julho de 2017. O clima apresentado

por essa região é classificado por Köppen como Aw, clima tropical, com estação seca de inverno. Os dados climáticos, durante o período experimental, são mostrados na Tabela 1.

TABELA 1 - Dados climatológicos do período de 21/junho a 25/julho de 2017, no município de Montes Claros – MG, Brasil. Fonte: INMET, 2018

Dias após o máximo comprimento	Temperatura média (°C)	Umidade do ar (%)	Radiação (kJ/m ²)
0	21,71	51,15	582,99
7	20,31	54,11	543,27
14	19,40	57,90	572,40
21	20,67	54,33	654,12
28	21,09	45,86	787,35

Utilizou-se o delineamento experimental em blocos inteiramente casualizados, com cinco tratamentos referentes aos dias, após o crescimento máximo do fruto (DACM) (0, 7, 14, 21, 28 dias) com 10 repetições, sendo cada parcela formada por dois frutos coletados por árvore. Foram realizadas coletas da terceira folha completamente expandida do ramo em que foram coletados os frutos. Os frutos e folhas coletados foram armazenados em sacos plásticos, identificados e levados ao Instituto de Ciências Agrárias da Universidade Federal de Minas Gerais (ICA-UFMG) para posteriores análises morfológicas e químicas.

Para análises morfológicas, foram mensurados o comprimento (H), com o auxílio de régua graduada; largura (L) e a espessura (E) dos frutos, com paquímetro digital com precisão de 0,01mm. Os frutos e folhas foram pesados e, em seguida, acondicionados em sacos de papel pardo e levados à estufa de circulação forçada de ar a 65 °C, até obter peso constante, para a determinação da matéria seca do fruto (MSF) e folha (MSF) e o teor de umidade dos frutos em base seca.

Após a determinação de peso seco, as folhas e frutos foram triturados separadamente em moinho tipo Willey e, posteriormente, armazenados para determinação de flavonoides totais e análise por Cromatografia Líquida de Alta Eficiência.

Para determinação dos flavonoides totais, os extratos vegetais foram preparados, conforme a metodologia de Mendes *et al.* (2005), com adaptações. As amostras de 250mg de frutos e folhas moídos foram incubados, separadamente, em tubos de centrifuga contendo 10mL de metanol 70% por 24h no escuro. Logo após esse período, foi retirada alíquota de 50 µL das amostras de fruto e 200 µL, para amostras de folhas e transferidos separadamente para tubos contendo 8,7mL de metanol 70%. Em seguida, adicionaram-se 133 µL de cloreto de alumínio 5% (5g de cloreto de alumínio em 100 mL de metanol 70%), sendo os tubos agitados para homogeneização. Após 30 minutos de repouso no escuro, fez-se a leitura a 425 nm em espectrofotômetro UV/visível marca microNal – (modelo 6582), utilizando-se o metanol 70% mais cloreto de alumínio como branco. Os resultados foram expressos em porcentagem.

A curva de calibração (Figura 9) foi feita a partir de solução estoque de rutina na concentração de (1mg mL^{-1}). Foram utilizadas cinco concentrações: 0,01; 0,02; 0,03; 0,04 e 0,05 mg mL^{-1} . Posteriormente, foi feita a leitura em espectrofotômetro a 425 nm, utilizando-se o metanol 70% mais cloreto de alumínio como branco, resultando em curva expressa pela equação ($y = 0,1216+15,106x$ $r^2 = 0,98$).

Na rotina de análises de rutina por Cromatografia Líquida de alta eficiência (CLAE), os extratos foram diluídos 100 vezes. Em seguida, os extratos foram filtrados em filtro de seringa (Filtrilo), tamanho de poro $0,22\mu\text{m}$ e transferidos para vial (SHIMADZU) com capacidade de 1,5 ml.

As análises foram realizadas em sistema CLAE da Shimadzu® equipado com: módulo desgaseificador modelo DGU-A5R, bomba modelo LC-AT, amostrador automático modelo SIL-20AHT, forno de coluna CTO-20A, detector UV-Vis(DAD) modelo SPD-M20A e módulo comunicador CBM-20^a. As análises foram realizadas em coluna Shimadzu® VP-ODS (250 mm x 4,6 mm, 5 μm), em combinação com coluna de proteção Shimadzu® ACE C18, diâmetro da partícula 5 μm , 3.0mm x 4.0mm. Foi utilizado gradiente linear de água (A) e acetonitrila (B), cada um contendo 0,01% de ácido fosfórico (v / v) da seguinte forma: 0min 95% A, 5% B; 20min 72% A, 28% B; 30min 5% A, 95% B; 35min 95% A, 5% B, à temperatura de 40 ° C e taxa de fluxo de $1,0\text{ mL min}^{-1}$. Os cromatogramas foram obtidos nos comprimentos de onda de 254 a 356nm (Landin; Feitoza; Costa, 2013). Os extratos e as soluções de referência foram tratados com metanol 70% (HPLC), a concentração de 25mg mL^{-1} (extratos). Após filtração, as soluções das amostras (10 μL) foram injetadas no aparelho. A identificação do pico de rutina nos cromatogramas foi realizada por comparação dos tempos de retenção do composto de referência e espectros de UV.

Foi preparada solução metanólica contendo $0,05\text{ mg mL}^{-1}$ de rutina e retiradas alíquotas desta solução para obtenção de concentrações correspondentes a 1; 20; 40; 60; 80 $\mu\text{g mL}^{-1}$. Após filtração, 10 μL das amostras foram injetadas no cromatógrafo, obtendo-se a curva padrão (Figura 10), representada pela equação $y=21059x - 218175$, $r^2 = 0,85$. Com base na curva realizada do padrão de rutina, foram calculadas as concentrações e, posteriormente, multiplicados pelo fator de diluição.

Os dados obtidos foram submetidos à análise de variância e, quando significativo o teste F, foram ajustadas equações de regressão para as variáveis, em função das épocas de coletas. Para análise de teor de flavonoides em partes dos frutos, os dados foram transformados para ($\sqrt{\text{ }}$) para atender os parâmetros de normalidade.

As características dos frutos, ao longo as épocas de análise, foram correlacionadas com temperatura média e umidade do ar e radiação, das semanas referentes ao período do estudo, provenientes de estação meteorológica do município de Montes Claros. Foram apresentadas apenas as correlações com valor maior que 60%.

As análises estatísticas foram realizadas, utilizando-se o software R, versão 3.3.1.

Resultados e discussão

Avaliação morfológica de frutos de fava d'anta

No presente estudo, não foram observadas diferenças significativas entre as épocas de colheita dos frutos de fava-d'anta nas variáveis comprimento, largura e espessura dos frutos, indicando que os frutos estavam com o crescimento interrompido, no período avaliado, ou seja, já haviam atingido as medidas máximas. Foi observada média entre as épocas de $133,9 \pm 29,2$ mm para comprimento do fruto, $28,5 \pm 3,8$ mm para largura dos frutos e $12,3 \pm 1,6$ mm para a característica espessura dos frutos. Macedo *et al.* (2004), em estudo com a mesma espécie, observaram resultados semelhantes, para comprimento e largura dos frutos, em três épocas de coletas. Estudos morfológicos de frutos de fava, conduzidos por Ferreira *et al.* (2001), na mesma região de MG, observaram resultados semelhantes para comprimento, largura e espessura do fruto. As médias de comprimento e largura dos frutos de *D. mollis* estão dentro da variação de comprimento encontrado, em trabalho realizado por (FREITAS *et al.* 2009), que foram entre 115,0 a 165,0mm e 26,40 a 29,50mm, respectivamente.

Para peso seco (Figura 5) e umidade dos frutos (Figura 6), foi observada diferença estatística significativa entre os tratamentos. A época que apresentou menor peso seco dos frutos foi ao 0 DACM (17,69g) e a maior foi aos 21 DACM (26,92g), indicando que os frutos, embora não tenham alterado a morfometria, receberam fotoassimilados.

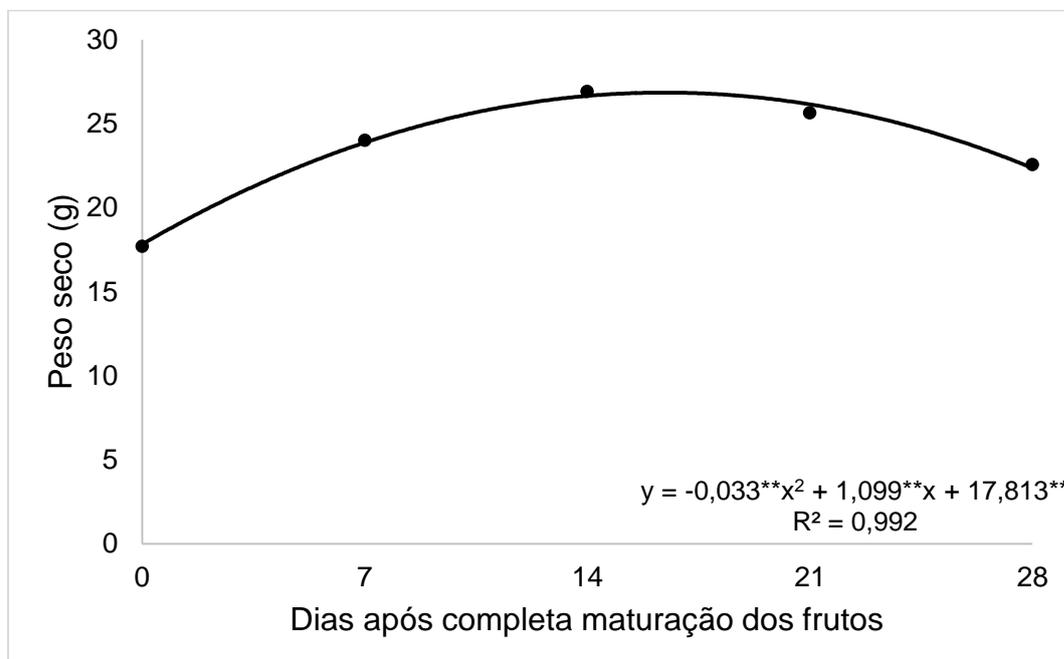


Figura 1- Peso seco de frutos de fava-d'anta (*Dimorphandra mollis* Benth.) em cinco épocas de coleta em Montes Claros-MG, Brasil.

** Significativo a 1% de probabilidade.

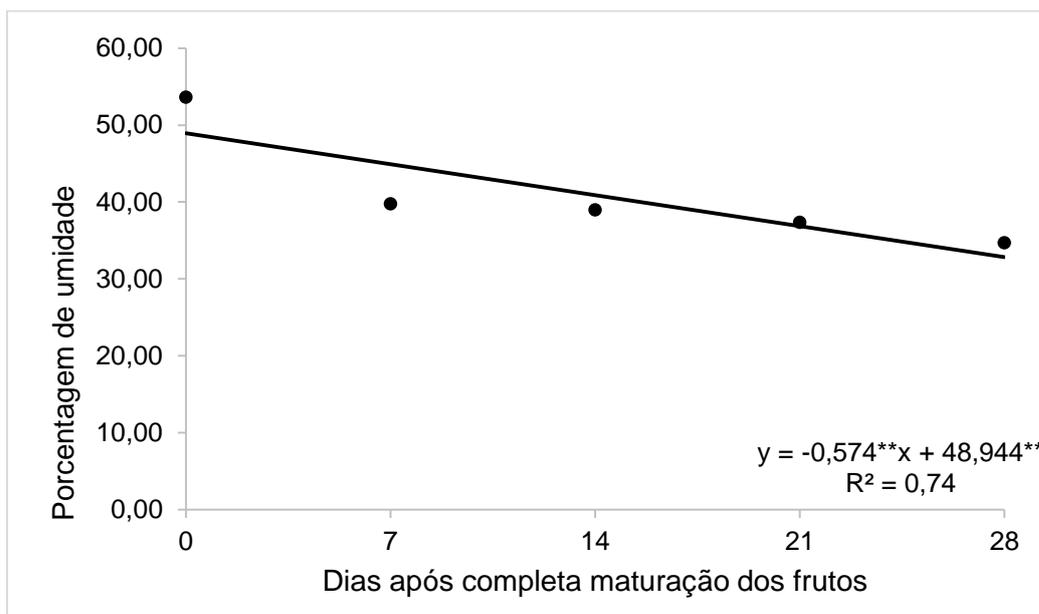


Figura 2 - Umidade de frutos de fava-d'anta (*Dimorphandra mollis* Benth.) em cinco épocas de coleta em Montes Claros-MG, Brasil.

** Significativo a 1% de probabilidade.

Macedo *et al.* (2004), trabalhando com três épocas de coletas de frutos de *D. mollis* Benth., em período total avaliado de 52 dias, observaram resultados diferentes para peso seco dos frutos, sendo encontradas médias de peso seco entre 10,47 e 17,44g. Essa diferença pode estar relacionada ao maior período avaliado por este estudo.

O peso seco dos frutos apresentou correlação significativa com a temperatura média do ar ($r=-0,88$; $P<0,05$). Este resultado indica que quanto maior a temperatura menor o peso seco dos frutos.

A época que apresentou maior porcentagem de umidade nos frutos foi 0 DACM. Aos 28 DACM, o fruto apresentou menor perda de água, durante o processo de secagem em estufa, sendo assim, possuía menor teor de umidade nos frutos na hora da coleta. Na época 5, os frutos já estavam em final da maturação, com coloração marrom e de aspecto rígido (Figura 4).



Figura 3 - Frutos de *Dimorphandra mollis* Benth.. A: 0 DACM. B: 28 DACM.

Fonte: Do autor, 2017. DACM: Dias após completa maturação do frutos.

Determinação de flavonoides totais por espectrofotômetro

O teor de flavonoides totais na folha variou de 1,59% a 2,27% e, no fruto, de 11,65% a 14,07% (Tabela 3) e não foram observadas diferenças estatísticas. Também não foi observada correlação significativa entre as variáveis teor de flavonoides no fruto e teor de flavonoides na folha pelo método de Pearson. Em frutos, as médias dos teores de flavonoides totais, observadas no presente estudo, foram superiores àquelas médias observados por Macedo *et al.* (2004), que variaram de 5,59% a 12,46%, o que pode ser explicado pelas diferenças que podem ocorrer, em função dos locais diferentes de coleta, embora no mesmo município e, ainda, pelas características genéticas das plantas.

TABELA 2 -Teor de flavonoides totais em frutos e folhas de fava-d'anta (*Dimorphandra mollis* Benth.) coletadas no município de Montes Claros-MG, Brasil em cinco épocas de coletas.

Teor de flavonoides na folha (%)	Teor de flavonoides no fruto (%)
Média \pm desvio-padrão	
1,93 \pm 0,53	12,78 \pm 3,8

Fonte: Do autor, 2018.

Em trabalho realizado por Hubinger; Salgado; Moreira (2009) com extrato metanólico de 80%, foram encontrados 10,25% de flavonoides totais em frutos de fava-d'anta, valor esse inferior ao encontrado em frutos do presente estudo. Entretanto Dorés (2007), em extrato etanólico 70%, encontrou valor de 12,36%, semelhante ao teor de $12,78 \pm 3,8\%$ encontrado no presente estudo.

Apesar de não haver diferença estatística entre os tratamentos, ao 0 DACM, no qual os frutos apresentaram coloração verde (Figura 5), a média do teor de flavonoides apresentou tendência de maiores valores. Este resultado está de acordo com CUSATI *et al.* (2006), ao relatar que o composto rutina é extraído em maior quantidade quando os frutos estão verdes.



Figura 4 - Frutos de *Dimorphandra mollis* Benth.. A: 0 DACM. B: 28 DACM.

Fonte: Do autor, 2017. DACM: Dias após completa maturação dos frutos.

Segundo Arabbi *et al.* (2004), os teores de flavonoides em frutos podem apresentar variação de até 100% entre semestres do ano, sendo influenciados por fatores climáticos, época de plantio e colheita e grau de maturidade dos frutos na hora da colheita.

A época em que se coleta o material da planta é um dos fatores de maior importância, visto que a quantidade e, às vezes, até mesmo a natureza dos constituintes ativos não é constante durante o ano. Entre estes compostos de grande variação estão os flavonoides (SPRING E BIENERT, 1987; PITAREVIC *et al.* 1984).

Nos frutos, foram observados maiores teores de flavonoides totais $12,78 \pm 3,8$ em relação às folhas $1,93 \pm 0,53$ e esses resultados corroboram com Cusati *et al.* (2006) e Martins *et al.* (2007) que, em estudos fitoquímicos com *D. mollis*, indicaram que, embora em menor concentração, as folhas secas também apresentam taninos e flavonoides.

O teor médio de flavonoides totais, encontrado nas folhas foi de $1,93 \pm 0,53$, sendo similar ao observado por Fernandes *et al.*, (2008), com média de 1,53%. Entretanto os valores encontrados neste trabalho foram superiores aos observados por Costa *et al.*, (2007), que foi de 0,25%. Essa variação no teor de flavonoides pode ser explicada pela idade das plantas avaliadas por Costa e colaboradores que foi de 120 dias. Os dois trabalhos utilizaram metodologia de avaliação de flavonoides totais semelhantes à realizada neste trabalho.

O teor de flavonoides totais no fruto apresentou correlação significativa com a umidade do ar ($r= 0,89$; $P<0,05$). Contudo esses dados estão contrários aos relatados por Sampaio, Edrada-Ebel e Da Costa (2016), em estudo com *Tithonia diversifolia*, que encontraram correlação negativa. Os autores justificam que houve redução da taxa fotossintética, com o conseqüente aumento de produção de espécies reativas de oxigênio (ROS), resultando em aumento na produção de compostos fenólicos, durante a estação seca, como mecanismo de defesa (RAMAKRISHNA E RAVISHANKAR, 2011; ARBONA *et al.*, 2013; REDDY, CHAITANYA, VIVEKANANDAN, 2004).

Avaliação e determinação de rutina por CLAE

A identificação de rutina nas amostras foi possível, mediante comparação do tempo de retenção (TR) das amostras de padrão de rutina (TR=20,68) com os tempos de retenção dos picos obtidos nos cromatogramas e, também, comparando os espectros de UV dos picos de interesse (Figura 8).

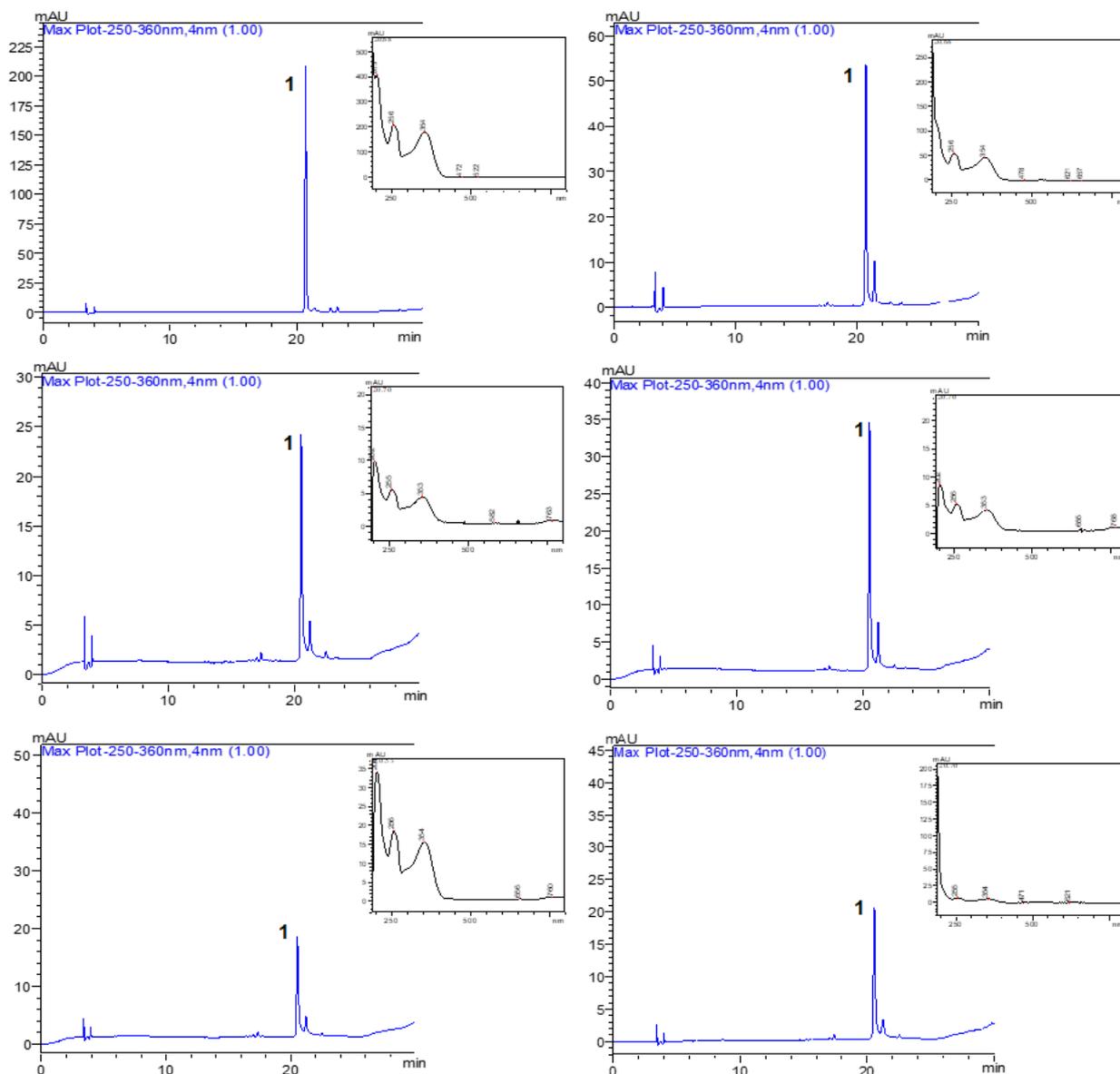


Figura 5 - Cromatogramas do extrato do fruto de fava-d'anta (*Dimorphandra mollis* Benth.) e espectros de UV de rutina, em solução de metanol 70% em cinco épocas de coleta. A: Cromatograma do padrão de rutina (Merk) na concentração de 80ppm. TR= 20,68. B: 0 DACM. TR= 20,70. D: 14 DACM. TR= 20,70. E: 21 DACM. TR= 20,70. F: 28 DACM. TR= 20,70.

Fonte: Do autor, 2018.

Os resultados foram expressos em porcentagem de rutina nas amostras de frutos. Os resultados da análise de regressão evidenciaram diferença estatística entre os tratamentos (Figura 7).

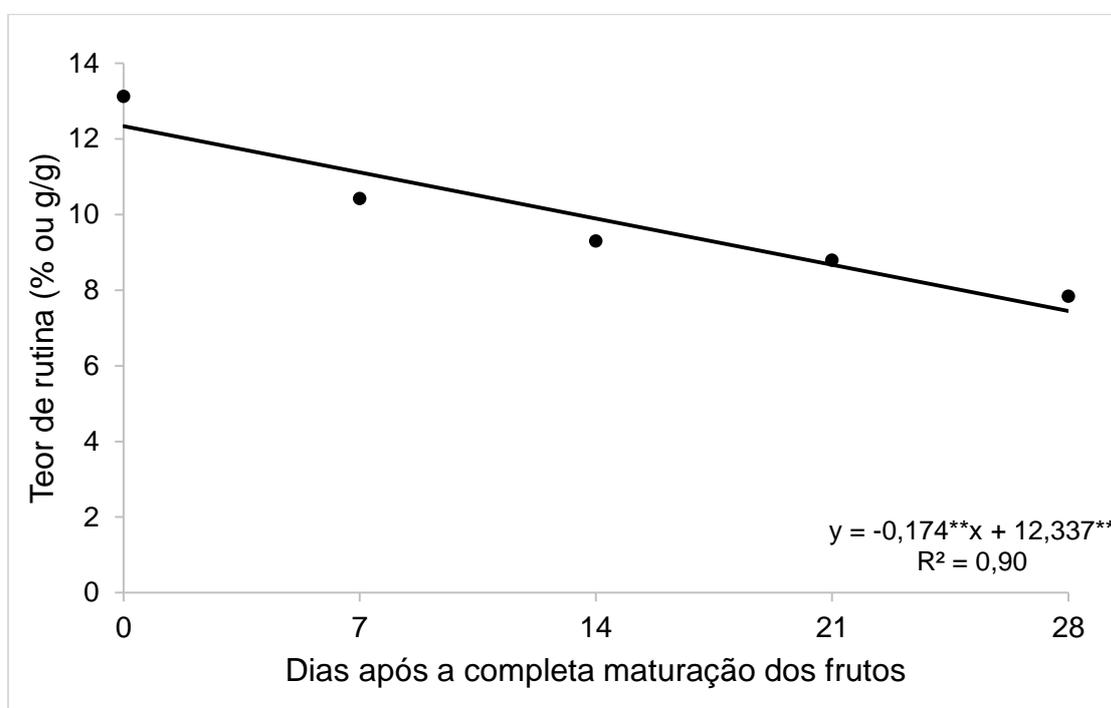


Figura 6 - Porcentagem de rutina em frutos de fava-d'anta (*Dimorphandra mollis* Benth.), em cinco épocas de coleta, em Montes Claros-MG, Brasil.

** Significativo a 1% de probabilidade.

Foi observado que ao 0 DACM o teor de rutina encontrado foi maior, com teor médio de 13,3%, decrescendo no decorrer das épocas de coleta. Ao 0 DACM, em que os frutos apresentaram coloração verde, apresentou maior teor de flavonoides. Aos 28 DACM, houve redução de 5,47% no teor de rutina. Este resultado está de acordo com CUSATI *et al.*, (2006), que relatam que o composto rutina é extraído, em maior quantidade, quando os frutos estão verdes.

O resultado encontrado neste estudo foi superior ao encontrado por Dores (2007), que utilizou também extrato metanólico e análise por CLAE e observou 9,89% de rutina em amostras de frutos verdes. Santos (2006) observou, em frutos de fava d'anta 6,59% de rutina, valor abaixo do menor teor obtido neste trabalho, utilizando CLAE. Isso pode ser explicado pelo fato de a coleta dos frutos terem ocorrido, quando estavam maduros e o solvente utilizado para extração de rutina ser água.

Comparando-se os teores de rutina obtidos por CLAE com teores de flavonoides totais obtidos por espectrofotometria, nota-se que os teores de rutina, analisados por CLAE, são maiores que o teor de flavonoides totais.

A análise de flavonoides totais por espectrofotômetro UV / Vis é o procedimento mais comum, baseando-se na formação de um complexo entre os grupos carboxila, hidroxila e os cátions de alumínio (Al^{3+}) (GIASL & BECKER, 1984; POPOVA *et al.* 2004). Entretanto as análises realizadas, utilizando CLAE, permitem estudo qualitativo e quantitativo comparando com padrões conhecidos, advindos de sua maior sensibilidade e precisão (CHABARIBERI *et al.* 2009; OBMANN *et al.* 2012).

Opostas às técnicas de espectrofotometria, as análises por CLAE têm como atributo principal a capacidade de separação de substâncias, possibilitando quantificar cada composto em separado e, conseqüentemente, mais exato (LOMBARD *et al.*, 2002; POPOVA *et al.* 2004). Também associado à utilização de detector matriz de fotodiodos fornece o perfil UV de cada composto, aumentando a eficácia na identificação (POPOVA *et al.* 2004).

CONCLUSÃO

Observa-se maior teor do flavonoide rutina quando os frutos estão verdes. Entretanto a época de coleta dos frutos não influenciou o teor de flavonoides totais. Também não foi observada correlação significativa entre os teores de flavonoides totais na folha e no fruto. Outros estudos podem ser realizados, aumentando o intervalo entre as coletas e, assim, abrangendo um período de avaliações maior, avaliando o teor de rutina em frutos mais jovens e correlacionando com o teor nas folhas.

REFERÊNCIAS

- ARABBI, P. R.; GENOVESE, M. I.; LAJOLO, F. M. Flavonoides in vegetable foods commonly consumed in Brazil and estimated ingestion by the Brazilian population. **J. Agric. Food Chem.** v. 52, p. 1124-1131, 2004.
- ARBONA, V.; MANZI, M.; OLLAS, C. DE.; GÓMEZ-CADENAS, A. Metabolomics as a tool to investigate abiotic stress tolerance in plants. **Int. J. Mol. Sci.**, v. 14, 4885–4911 2013.
- AZUMA A.; YAKUSHIJI H.; KOSHITA Y.; KOBAYASHI S. Flavonoid biosynthesis-related genes in grape skin are differentially regulated by temperature and light conditions. **Planta**, v. 236, p. 1067–1080 2012.
- BROOKS, J. S.; FEENY, P.; Seasonal variation in *Daucus carota* leaf-surface and leaf-tissue chemical profiles. **Biochemical Systematics and Ecology**, v. 32, 2004.
- CALDEIRA JÚNIOR, C. F.; SANTOS, A. M.; QUEIROZ, J. M. R.; PAULA, T. O. M.; MARTINS, E. R. Fenologia da fava-d'anta (*Dimorphandra mollis* Benth.) no norte de Minas Gerais, Brasil. RBPM - **Revista Brasileira de Plantas Mediciniais**, Botocatu, v.10, n. 4, p. 18-28, 2008.
- CALDWELL, A.; BRITZ, S. J.; MIRECKI, R. M. Effect of temperature, elevated carbon dioxide, and drought during seed development on the isoflavone content of dwarf soybean [*Glycine max* (L.) Merrill] grown in controlled environments. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 53, p. 1125-1129, 2005.
- COSTA, C.A.; ALVES, D.S.; FERNANDES, L.A.; MARTINS, E.R.; SOUZA, I. G. B.; SAMPAIO, R.A.; LOPES, P. S. N. Nutrição mineral da fava d'anta. **Hortic. bras.** v. 25, n. 1, jan.-mar. 2007.
- COTA, C. G. **Atributos do solo, crescimento inicial e teor de flavonoides em mudas de fava-d'anta sob níveis de saturação por bases**. Dissertação (Mestrado em Produção Vegetal) – Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte, 2017
- CUSATI, R. C.; MANGIAVACCHI, K. M.; RODRIGUES-DAS-DORES, R. G.; DEMUNER, A. J.; MARTINS, E. R.; FINGER, F. L.; CASALI, V. W. Teores de flavonóides de fava d'anta - *Dimorphandra mollis* (Caesalpinaceae). In: CONGRESSO BRASILEIRO DE QUÍMICA, 46. 2006, Salvador. **Anais...** Salvador: ABQ. 2006.
- DÔRES, R. G. R. D. **Análise morfológica e fitoquímica da fava d anta (*Dimorphandra mollis* Benth.)**. 2007. 375 f. Tese (Doutorado em Fitotecnia) – Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, 2007.
- FERNANDES, L.A.; ALVES, D.S.; SILVA, L.F.; SILVA, N.C.A.; MARTINS, E.R.; SAMPAIO, R.A.; COSTA, C.A. Níveis de nitrogênio, fósforo e potássio para a produção de mudas de fava d'anta (*Dimorphandra mollis* Benth). **Rev. Bras. Pl. Med.**, Botucatu, v.10, n.1, p.94-99, 2008.
- FERREIRA, R. A.; BOTELHO, S. A.; DAVIDE, A. C.; MALAVASI, M. M. Morfologia de frutos, sementes, plântulas e plantas jovens de *Dimorphandra mollis* Benth. – faveira (Leguminosae-Caesalpinioideae). **Revista Brasileira de Botânica**, São Paulo, v.24, n.3, p.303-309, 2001.
- FREITAS, V. L. O. et al. Biometria de frutos e sementes e germinação de sementes de *Dimorphandra mollis* Benth. e *D. wilsonii* Rizz. (Fabaceae – Caesalpinioideae). **Scientia Forestalis**, Piracicaba, v. 37, n. 1, p. 27-35, 2009.
- GIULIANO, I.; SILVA, T. G. M.; NAPOLEÃO, R.; GUTIÉRREZ, A. H.; SIQUEIRA, C. S. Identificação de fungos em sementes de *Dimorphandra mollis* e efeito de diferentes tratamentos. **Fitopatologia Brasileira**, Brasília, 93 v. 30, n. 5, p. 553, set./out. 2005
- HUBINGER, S. Z.; CEFALI, L. C.; VELLOSO, J. C. R.; SALGADO, H. R. N.; ISAAC, V. L. B.; MOREIRA, R. R. D. *Dimorphandra mollis*: an alternative as a source of flavonoids with antioxidant action. **Latin American Journal of Pharmacy**, v. 29, n. 2, p. 271-274, 2010.
- ISHITSUKA, K.; HIDESSHIMA, T. HAMASAKI, M.; RAJE, N.; KUMAR, S. HIDESSHIMA, H.; SHIRAIISHI, N.; YASUI, H.; ROCCARO, A. M.; RICHARDSON, P.; PODAR, K.; LE GOUILI, S.; CHAUHAN, D.; TAMURA, K.; ARBISER, I.; ANDERSON, K. C. Honokiol overcomes conventional

drug resistance in human multiple myeloma by induction of caspase-dependent and-independent apoptosis. **Blood.**, v. 106, p. 1794-1800, 2005.

JAAKOLA, L.; HOHTOLA, A. Effect of latitude on flavonoid biosynthesis in plants. **Plant Cell Environ.**, v. 33, p. 1239–1247, 2010.

KOES, R.; VERWEIJ, W.; QUATTROCCHIO, F. Flavonoids: a colorful model for the regulation and evolution of biochemical pathways. **Trends Plant Sci.**, v. 10, p. 236–242, 2005.

LANDIM, L.P. FEITOZA, G. S. COSTA, J. G. M. Development and validation of a HPLC method for the quantification of three flavonoids in a crude extract of *Dimorphandra gardneriana*. **Revista Brasileira de Farmacognosia Brazilian Journal of Pharmacognosy**, v. 23, n. 1, p. 58-64, 2013.

LORENZI, H.; MATOS, F. J. A. **Plantas medicinais no Brasil: nativas e exóticas cultivadas**. Nova Odessa: Instituto Plantarum, 2002.

MACEDO, E. A. S.; MENDES, A. D. R.; QUEIROZ, J. M. R. MARTINS, E. R. Influência da época de colheita, procedimento de secagem e parte do fruto no teor de flavonoides em fava d'anta (*Dimorphandra mollis* Benth.). **REV. BRAS. PL. MED.**, Botucatu, v. 7, n. 1, p. 1-5, 2004.

MARTINS, L. V. et. al. Prospecção fitoquímica preliminar de *Dimorphandra mollis* Benth (Fabaceae-Mimosoideae). **Revista Brasileira de Biociências**, Porto Alegre, v. 5, supl.2, p.823-830, 2007.

MENDES, A.D.R.; MARTINS, E.R.; FERNANDES, L.A.; MARQUES, C.C.L. Produção de biomassa e de flavonoides totais por fava d'anta (*Dimorphandra mollis* Benth) sob diferentes níveis de fósforo em solução nutritiva. **Revista Brasileira de Plantas Medicinais**, Botucatu, v.7, n.2, p.7-11, 2005.

NUNES, J. D. **Manejo, extrativismo e análise morfológica da fava-d'anta (*Dimorphandra mollis* benth.) na região do norte de Minas Gerais**. 2010. Dissertação (Mestrado em Ciências Agrárias) – Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte, 2010

OLIVEIRA, O. F. DO V.; GONDIM, M. J. DA C. Plantas medicinais utilizadas pela população de Caldas Novas, GO e o conhecimento popular sobre a faveira (*Dimorphandra mollis* Benth-Mimosoideae). **Rev. Bras. de Agroecologia**. v. 8, n. 1, p. 156-169, 2013.

PITAREVIC., I.; KUFTINEC, J.; BLAŽEVIC. , N.; KUŠTRAK, D. Seasonal variation of essential oil yield and composition of Dalmatian sage, *Salvia officinalis*. **J. Nat. Prod.**, v. 47, n. 409, 1984.

RAMAKRISHNA, A. & RAVISHANKAR, G. A. Influence of abiotic stress signals on secondary metabolites in plants. **Plant Signal. Behav.**, v. 6, p. 1720–1731, 2011.

REDDY, A. R., CHAITANYA, K. V. & VIVEKANANDAN, M. Drought-induced responses of photosynthesis and antioxidant metabolism in higher plants. **J. Plant Physiol.**, v. 161, p.1189–1202, 2004.

REIS, M. M. L. **Avaliação de flavonóides em extratos vegetais por meio da técnica de CLAE**. 2015. TCC (Curso de Farmácia) - Universidade de Brasília, Brasília 2015.

SAMPAIO, B. L.; EDRADA-EBEL, R.; DA COSTA, F. B. Effect of the environment on the secondary metabolic profile of *Tithonia diversifolia*: a model for environmental metabolomics of plants. **Scientific Reports**, v. 6, 2016.

SPRING, O.; BIENERT, U. Sesquiterpene lactones in glandular trichomes of sunflower leaves. **J. Plant Physiol.** v.130, n. 441, 1987.

STRUTZEL, E. et al. Análise dos fatores de risco para o envelhecimento da pele: aspectos gerais e nutricionais. **Revista Brasileira de Nutrição Clínica**, São Paulo, v. 22, n. 2, p. 139-145, 2007.

SUDRÉ, C. P.; RODRIGUES, R.; GONÇALVES, L. S. A.; MARTINS E. R, PEREIRA, M. G.; SANTOS, M. H. Genetic divergence among *Dimorphandra* spp. accessions using RAPD markers. **Ciência Rural**, Santa Maria, v. 41, n. 4, p. 608- 613, 2011.

ANEXOS

FIGURA 3 - Curva de calibração de padrão rutina, para teor de flavonoides totais em cinco épocas de coletas de fruto de fava-d'anta (*Dimorphandra mollis* Benth.).

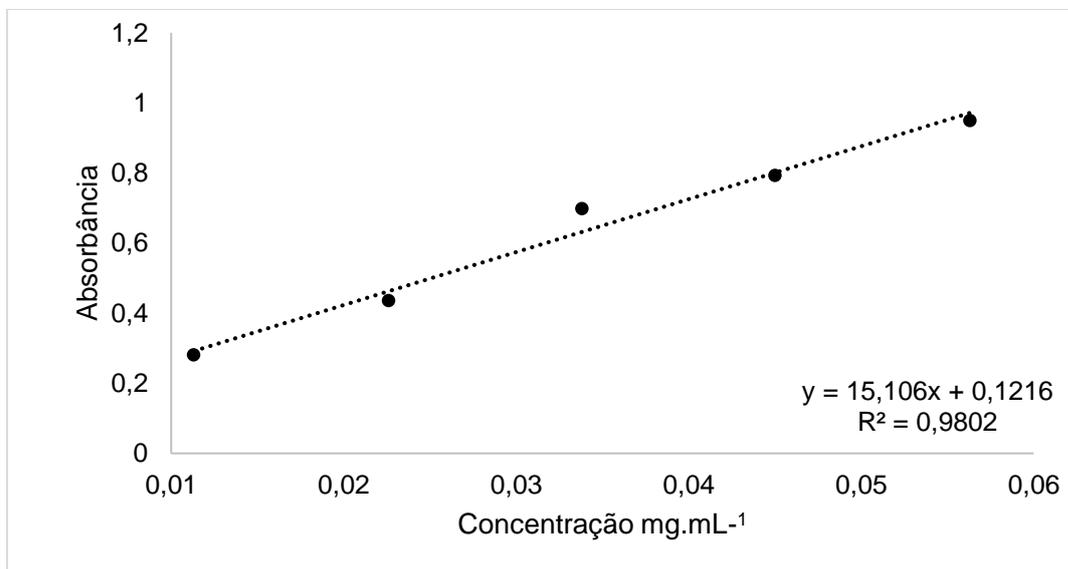


FIGURA 4 - Curva de calibração de padrão rutina, para determinação de rutina por CLAE, em frutos de fava-d'anta (*Dimorphandra mollis* Benth.).

