

**UNIVERSIDADE FEDERAL DE PELOTAS**  
**Faculdade de Agronomia Eliseu Maciel**  
**Programa de Pós-Graduação em Ciência e Tecnologia de Alimentos**



Tese

**Prospecção Química e Biológica de Flores de *Viola x wittrockiana***

**Lorena Aguiar da Silva**

Pelotas, 2021

**Lorena Aguiar da Silva**

**Prospecção Química e Biológica de Flores de *Viola x wittrockiana***

Tese apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciência e Tecnologia de Alimentos da Faculdade de Agronomia Eliseu Maciel da Universidade Federal de Pelotas, como requisito parcial à obtenção do título de Doutor em Ciência e Tecnologia de Alimentos.

Orientador: Dr. Rui Carlos Zambiasi

Coorientadora: Dra. Síntia Zitzke Fischer

Pelotas, 2021

Universidade Federal de Pelotas / Sistema de Bibliotecas  
Catalogação na Publicação

S111p Silva, Lorena Aguiar da

Prospecção Química e Biológica de Flores de *Viola x wittrockiana* / Lorena Aguiar da Silva ; Rui Carlos Zambiasi, orientador ; Síntia Zitzke Fischer, coorientador. — Pelotas, 2021.

69 f. : il.

Tese (Doutorado) — Programa de Pós-Graduação em Ciência e Tecnologia de Alimentos, Faculdade de Agronomia Eliseu Maciel, Universidade Federal de Pelotas, 2021.

1. Amor-perfeito. 2. Antioxidantes. 3. Açúcares. 4. Atividade antibacteriana. 5. Fitoquímicos. I. Zambiasi, Rui Carlos, orient. II. Fischer, Síntia Zitzke, coorient. III. Título.

CDD : 664

Dedico este trabalho à minha mãe.

## **Agradecimentos**

À minha família e amigos pelo apoio durante o período de doutorado.

Ao meu orientador Rui Carlos Zambiasi, excelente profissional e ser humano, pelos seus ensinamentos, sua ajuda, apoio e compreensão.

Aos professores do programa de pós - graduação de Ciência e Tecnologia de Alimentos pelos ensinamentos e pelo apoio.

À minha co-orientadora Síntia Fischer, excelente profissional e ser humano, pelos seus ensinamentos, sua ajuda, apoio e compreensão.

Aos professores Márcio Mariot e Elisabeth Stumpf e ao funcionário Sergio Soares do setor de floricultura da coordenação de agricultura do campus Pelotas – Visconde da Graça do Instituto Federal Sul-Rio-Grandense, pelos ensinamentos e apoio.

Aos servidores e funcionários da coordenação de agroindústria do campus Pelotas - Visconde da Graça do Instituto Federal Sul-Rio-Grandense, especialmente a Letícia Marques de Assis.

À professora Andressa Jacques pelos ensinamentos em cromatografia e apoio, tanto profissional como pessoal.

Ao professor Eliezer Gandra pelos ensinamentos de métodos de avaliação de atividade antibacteriana e pelo apoio.

E aos colegas de laboratórios do programa de pós-graduação de ciência e tecnologia de alimentos, pelo convívio e apoio.

Obrigada.

## Resumo

SILVA, Lorena Aguiar da. **Prospecção Química e Biológica de Flores de *Viola x wittrockiana***. 2021. 69f. Tese (Doutorado em Ciência e Tecnologia de Alimentos) – Programa de Pós-Graduação em Ciência e Tecnologia de Alimentos, Faculdade de Agronomia Eliseu Maciel, Universidade Federal de Pelotas, 2021.

Alimentos com potencial funcional tem se expandindo comercialmente devido a maior procura dos consumidores por alimentos que tenham um apelo nutricionalmente saudável ou com características que auxiliem na manutenção da saúde. O amor-perfeito (*Viola x wittrockiana*) é uma flor comestível, que apresenta uma ampla variedade de colorações. O objetivo deste estudo foi avaliar o potencial bioativo e nutricional de flores de *Viola x wittrockiana* de diferentes colorações, através da determinação do teor de compostos bioativos, do perfil de compostos fenólicos e antocianinas, e das atividades antioxidante e antibacteriana, além de avaliar o tipo de açúcar presente, composição proximal, perfil de ácidos graxos, condições de extração de compostos fenólicos e preferência por cor. Foram cultivadas plantas da espécie *Viola x wittrockiana*, e as flores foram coletadas no estágio de floração, liofilizadas e armazenadas em ultrafrigorífico a  $-80\text{ }^{\circ}\text{C}$ , até a realização das análises. Foram obtidos teores de 80,27 g de carboidratos totais, 10,14 g de proteína bruta, 1,67 g de gordura e 7,92 g de cinzas por 100 g de amostra seca. O valor de energia total foi de 376,67 Kcal por 100 g amostra seca. O ácido palmítico foi o ácido graxo majoritário, seguido pelo ácido linoleico. As pétalas com colorações “azul e branca” e “vermelha com mancha rubi” foram as preferidas pelos julgadores do teste sensorial de preferência. No processo de extração utilizado na quantificação de compostos fenólicos destas flores, foi escolhido etanol como solvente e tempo de 24h. As flores de coloração “laranja” apresentaram os maiores teores de carotenoides, flavonoides e de compostos fenólicos, não diferindo estatisticamente das flores de coloração “azul” em relação aos conteúdos de compostos fenólicos. O maior teor de antocianinas foi observado nas flores de coloração “vermelha com mancha rubi”. Os maiores teores de ácido ascórbico foram observados nas flores de colorações “roxa e branca” e “violeta e amarela”, sendo que nesta última também foram observados os maiores teores de tocoferóis. O açúcar majoritário das flores de amor-perfeito foi a glicose. Nas flores de coloração “vermelho com mancha rubi” foram identificadas maior número de antocianinas. O composto fenólico majoritário em todas as colorações de amor-perfeito foi a rutina. O efeito inibitório do radical DPPH foi em torno 90%, e do radical ABTS variou de 41,77 a 55,17 %. Extratos das flores foram eficientes contra *Escherichia coli*, quando utilizado o método de disco difusão. Pelos resultados, conclui-se que a flor comestível de *Viola x wittrockiana* pode enriquecer um cardápio através de seu potencial funcional, além de agir como agente antimicrobiano.

**Palavras-chave:** amor-perfeito; antioxidantes; açúcares; atividade antibacteriana; fitoquímicos; análise sensorial; composição centesimal; ácidos graxos

## Abstract

SILVA, Lorena Aguiar da. **Chemical and Biological Porpecion of *Viola x wittrockiana* flowers**. 2021. 69f. Thesis (Doctorate degree em Ciência e Tecnologia de Alimentos) – Programa de Pós-Graduação em Ciência e Tecnologia de Alimentos, Faculdade de Agronomia Eliseu Maciel, Universidade Federal de Pelotas, 2021.

Foods with functional potential have been expanding commercially due to increased consumer demand for food that has a nutritionally healthy appeal or features that help maintain health. The amor-perfeito (*Viola x wittrockiana*) is an edible flower, which has a wide variety of colors. The objective of this study was to evaluate the bioactive potential of *Viola x wittrockiana* flowers from different colors by determining the content of bioactive compounds, the profile of phenolic compounds and anthocyanins, and antioxidant and antibacterial activities, and also to evaluate the sugar present, proximal composition, fatty acid profile and preference for color. The plants of the species *Viola x wittrockiana* were cultivated, and the flowers were collected at flowering stage, lyophilized and stored in ultra freezer at - 80 °C, until the analyzes were performed. The contents of 80.27 g of total carbohydrates, 10.14 g of crude protein, 1.67 g of fat and 7.92 g of ash per 100 g of dry sample were obtained. The total energy value was 376.67 Kcal per 100 g dry sample. Palmitic acid was the major fatty acid, followed by linoleic acid. Petals with "blue and white" and "ruby red" staining were preferred by judges of the sensory preference test.

The "orange" flowers presented the highest levels of carotenoids, flavonoids and phenolic compounds, not statistically differing from flowers of "blue" color in relation to the content of phenolic compounds. The highest levels of ascorbic acid were observed in the flowers of "purple and white" and "violet and yellow" staining, and in the latter was also observed the highest content of tocopherols. The major sugar of amor-perfeito flowers was glucose. A greater number of anthocyanins were identified in the "red ruby stain" flowers. The major phenolic compound in all amor-perfeito colorations was the rutine. The inhibitory effect of the DPPH radical was around 90%, and the ABTS radical ranged from 41.77 to 55.17%. Extracts of the flowers were efficient against *Escherichia coli* when using the diffusion disc method. From the results, it can be concluded that the edible flowers of *Viola x wittrockiana* can enrich a menu through its functional potential, besides acting as an antimicrobial agent.

**Key-words:** pansy; antioxidants; sugars; antibacterial activity; phytochemicals; sensory analysis; centesimal composition; fatty acids

## Lista de Figuras

### Capítulo 1

Figura 1 Fotos das flores de *Viola x wittrockiana*..... 24

Figura 2 Resultado do Teste de Preferência das flores de *Viola x wittrockiana*..... 38

### Capítulo 2

Figura 1 Cinco colorações de amor-perfeito (*Viola x wittrockiana*)..... 42

## Lista de Tabelas

Tabela 1	Cor e sabor de diferentes espécies de flores comestíveis.....	14
----------	---	----

### Capítulo 1

Tabela 1	Composição proximal e energia total de flores de <i>Viola x wittrockiana</i> .....	28
----------	--	----

Tabela 2	Composição de ácidos graxos (% relativa) em flores de <i>Viola x wittrockiana</i> .....	31
----------	---	----

Tabela 3	Teor de compostos fenólicos (miligramas de ácido gálico equivalente por gramas de flores de <i>Viola x wittrockiana</i> ), utilizando diferentes solventes e tempos no processo de extração.....	32
----------	--	----

Tabela 4	Teor de compostos fenólicos (CFT), antocianinas (AT) e flavonoides (FT) de flores de <i>Viola x wittrockiana</i> de diferentes colorações.....	34
----------	--	----

### Capítulo 2

Tabela 1	Teor total de compostos fenólicos, antocianinas, flavonoides, carotenoides e ácido ascórbico em flores de <i>Viola x wittrockiana</i> de cinco colorações.....	48
----------	--	----

Tabela 2	Teores de tocoferóis presentes nas flores de <i>Viola x wittrockiana</i> de cinco colorações.....	51
----------	---	----

Tabela 3	Teores de açúcares nas flores de <i>Viola x wittrockiana</i> de diferentes colorações.....	52
----------	--	----

Tabela 4	Antocianinas e compostos fenólicos identificados em flores de <i>Viola x wittrockiana</i> de cinco colorações.....	56
Tabela 5	Atividade antioxidante e antibacteriana de flores de <i>Viola x wittrockiana</i> de cinco colorações.....	57
Tabela 6	Correlação entre os teores de compostos bioativos e atividade antioxidante e antibacteriana obtidos nas flores de <i>Viola x wittrockiana</i> .....	59

## Sumário

<b>1 Introdução</b> .....	11
1.2 Objetivo Geral .....	12
1.3 Objetivos Específicos .....	13
<b>2 Revisão da Literatura</b> .....	13
2.1 Flores Comestíveis .....	13
2.2 Amor-perfeito ( <i>Viola x wittrockiana</i> ) .....	14
2.3 Composição Química de Flores Comestíveis .....	15
2.4 Atividade Antioxidante e Biológica de Flores Comestíveis .....	19
2.5 Preferência por Cor de Flores Comestíveis .....	21
<b>3 Capítulo 1 – Composição Proximal, Conteúdo de Compostos Bioativos e Preferência por Cor de Flores de <i>Viola x wittrockiana</i></b> ...	22
1 Introdução .....	22
2 Material e Métodos .....	23
2.1 Cultivo de Flores de <i>Viola x wittrockiana</i> .....	23
2.2 Caracterização do Mix de Flores .....	25
2.2.1 Composição Proximal .....	25
2.2.2 Perfil de Ácidos Graxos .....	25
2.3 Otimização do Processo de Extração dos Compostos Fenólicos .....	26
2.3.1 Extração e Quantificação do Total de Compostos Fenólicos de <i>Viola x wittrockiana</i> .....	26
2.4 Determinação de Antocianinas e Flavonoides .....	26
2.5 Análise Sensorial de Preferência .....	27
2.6 Análise Estatística .....	27
3 Resultados e Discussão .....	28
3.1 Composição Proximal .....	28
3.2 Perfil de Ácidos Graxos .....	29
3.3 Extração do Total de Compostos Fenólicos de <i>Viola x wittrockiana</i> ..	32
3.4 Quantificação do Total de Compostos Fenólicos, Antocianinas e Flavonoides .....	33
3.5 Análise Sensorial de Preferência .....	37
4 Conclusão .....	38

<b>4 Capítulo 2 – Potencial Bioativo de Flores de <i>Viola x wittrockiana</i></b>	
<b>de Diferentes Colorações</b> .....	40
1 Introdução .....	40
2 Material e Métodos .....	41
2.1 Cultivo e Preparo das Amostras de Flores de <i>Viola x wittrockiana</i> ....	41
2.2 Determinações Químicas das Amostras .....	42
2.2.1 Total de Compostos Fenólicos .....	42
2.2.2 Total de Antocianinas e Flavonoides .....	42
2.2.3 Total de Carotenoides .....	43
2.2.4 Ácido Ascórbico .....	43
2.2.5 Tocoferóis Individuais .....	43
2.2.6 Compostos Fenólicos Individuais .....	44
2.2.7 Antocianinas Individuais .....	44
2.2.8 Perfil de Açúcares .....	45
2.3 Atividade Antioxidante .....	45
2.3.1 Por DPPH <sup>•</sup> (2,2-difenil-1-picril-hidrazila) .....	45
2.3.2 Por ABTS <sup>•+</sup> (2,2'-azinobis(3-etilbenzotiazolina-6-ácido sulfônico)) .	46
2.4 Atividade Antibacteriana .....	46
2.5 Análise Estatística .....	47
3 Resultados e Discussão .....	47
3.1 Total de Compostos Fenólicos, Antocianinas, Flavonoides, Carotenoides e de Ácido Ascórbico .....	47
3.2 Tocoferóis .....	50
3.3 Açúcares .....	52
3.4 Compostos Fenólicos e Antocianinas Individuais .....	53
3.5 Atividade Antioxidante e Antibacteriana .....	57
4 Conclusão .....	60
<b>5 Consideração Final</b> .....	61
<b>Referências</b> .....	62

## 1 Introdução

O consumo de vários tipos de plantas comestíveis fornece excelentes benefícios para a saúde, por serem uma fonte rica de compostos bioativos, os quais são responsáveis pela redução do risco de várias doenças, como as doenças cardiovasculares e o câncer (KAISSON et al., 2011). A flor é uma parte importante da planta que contém uma grande variedade destes compostos em suas pétalas, tais como os ácidos fenólicos, flavonóides, antocianinas, carotenoides, tocoferóis e outros (KAISSON et al., 2012). A capacidade antioxidante de muitos compostos bioativos contidos em pétalas de flores, as tornam atrativas para consumidores exigentes em relação a alimentos saudáveis (CARAZO e LOPEZ, 2009). Neste contexto Mlcek e Rop (2011), relatam que flores comestíveis de plantas ornamentais são uma opção recente como fonte usual de alimentos.

O consumo de flores é conhecido desde a antiguidade em várias civilizações e estão se popularizando em todo o mundo, o que pode ser verificado pelo aumento de receitas que utilizam flores comestíveis, como as receitas apresentadas em livros, revistas e programas culinários de televisão (KELLEY et al., 2003; CARAZO e LOPEZ, 2009). O aumento da utilização de flores na culinária é devido ao crescimento e desenvolvimento do mercado gastronômico, onde os chefes de cozinha buscam novos produtos para inserir em seus pratos (ORR, 2011). Também observa-se uma valorização dos alimentos regionais, naturais e por uma culinária de requinte, com apelo midiático e de glamour (KINUPP e LORENZI, 2014). Flores comestíveis apresentam várias cores, sabores e formas, e podem ser utilizadas frescas ou como ingredientes para saladas, sopas, guarnição, sobremesas e bebidas (KAISOON et al., 2012). De acordo com Carazo e Lopez (2009), a produção de flores comestíveis pode reverter em um ótimo complemento alimentar, além de ser uma alternativa de cultivo para melhorar a rentabilidade global de uma exploração hortícola, especialmente em zonas periurbanas próximas a mercados de alta demanda e elevado poder aquisitivo, onde o consumidor busca por produtos comestíveis diferenciados e inovadores.

No Brasil, as flores comestíveis que foram precursoras do mercado de aplicação na gastronomia foram a capuchinha (*Tropaeolum majus* L.), flor de coloração laranja com sabor levemente picante assemelhado ao do agrião, cujas

folhas também são consumidas, e o amor-perfeito (*Viola x wittrockiana*), com intensas e variadas cores e sabor levemente adocicado, sendo muito utilizada na gastronomia brasileira (ORR, 2011). A *Viola x wittrockiana* é uma das espécies de flores comestíveis de maior consumo, por ser uma herbácea anual com floração de coloração variada, inclusive no outono e na primavera, uma época com menos espécies em floração (CARAZO e LOPEZ, 2009).

Segundo Kinupp e Lorenzi (2014), a *Viola x wittrockiana* é considerada uma PANC (plantas alimentícias não convencionais). As PANC são plantas que se caracterizam por apresentarem nomes, formas de consumo e de preparo não comuns. As PANC podem ser consumidas pelo homem tanto na forma *in natura* quanto no preparo culinário, mas que apresentem potencial de cultivo e extrativismo imediato, e que tenham indicação de alto valor nutricional e de compostos bioativos, com amplo potencial como alimento funcional.

Vukics et al. (2008) relatam que devido ao conteúdo de compostos bioativos, como de compostos fenólicos presentes no amor-perfeito, estas flores podem representar uma fonte promissora de antioxidantes, e que à medida que estas informações se tornem mais comuns, podem agregar valor e torná-las mais atrativas aos consumidores. Na literatura encontram-se alguns estudos sobre o conteúdo de compostos fenólicos, antocianinas, carotenóides e vitamina C de algumas espécies de flores comestíveis; no entanto, até o momento pouco é conhecido sobre o conteúdo de compostos bioativos no amor-perfeito. Kinupp e Lorenzi (2014) constataam que no Brasil existem poucos trabalhos científicos ou mesmo de divulgação sobre PANC, e que mais pesquisas são importantes, para que as mesmas sejam valorizadas e que sejam mais utilizadas para se obter uma alimentação mais saudável.

## 1.2 Objetivo Geral

Os objetivos do presente estudo foram realizar uma caracterização físico química, com ênfase nos principais grupos de compostos bioativos, e avaliar a atividade antioxidante e antimicrobiana de diferentes colorações de flores de *Viola x wittrockiana*.

### 1.3 Objetivos específicos

Caracterizar em uma mistura de flores de *Viola x wittrockiana* de diferentes cores, quanto à determinação proximal e perfil de ácidos graxos;

Determinar os teores de compostos fenólicos, flavonoides e antocianinas de 22 flores de *Viola x wittrockiana* com colorações diferentes;

Avaliar sensorialmente a preferência de consumidores pelas 22 flores com colorações diferentes de *Viola x wittrockiana*;

Avaliar diferentes condições de extração, variando solvente (etanol, metanol e água) e tempo (1, 3 e 24h), na quantificação de compostos fenólicos de flores de *Viola x wittrockiana*;

Determinar os teores de compostos fenólicos, antocianinas, carotenóides, ácido ascórbico, tocoferóis e açúcares presentes em flores de *Viola x wittrockiana* com cinco colorações diferentes;

Identificar os compostos fenólicos e antocianinas presentes em flores de *Viola x wittrockiana* de cinco colorações diferentes;

Determinar a atividade antioxidante *in vitro* de flores com diferentes colorações de *Viola x wittrockiana*, frente aos métodos DPPH e ABTS;

Avaliar o potencial antimicrobiano de flores com diferentes colorações de *Viola x wittrockiana* contra às bactérias *Escherichia coli* e *Staphylococcus aureus*.

## 2 Revisão da Literatura

### 2.1 Flores Comestíveis

A flor é o órgão da reprodução sexuada das plantas superiores. O néctar, que consiste na secreção adocicada das flores, faz com que elas sejam agradáveis ao paladar, e os óleos essenciais conferem aroma distinto, assim muitas flores fazem parte de pratos culinários por conferir perfumes e sabores, além de uma bela decoração. As flores a serem utilizadas na alimentação devem ser cultivadas para esse propósito, devido ao controle do que é utilizado em seu cultivo, ou adquiridas

de produtores que se dedicam ao cultivo orgânico, mas nunca devem ser adquiridas no comércio para decoração de casas, pois geralmente na sua produção é utilizado produtos químicos (fertilizantes sintéticos e pesticidas), que são prejudiciais à saúde (FELIPPE, 2004; FERNANDES et al., 2017).

As flores comestíveis são consideradas PANC (plantas alimentícias não convencionais), segundo Kinupp e Lorenzi (2014), ou seja, são plantas ou parte de plantas não comuns. Porém, nos últimos anos houve um crescente interesse na utilização de flores comestíveis na culinária, como decoração ou ingredientes de saladas, sopas, bolos, sobremesas e bebidas (FRIEDMAN et al., 2010; GONÇALVES et al. 2012; CHEN et al., 2017; EGEBJERG et al., 2018). Na Tailândia muitas flores são consumidas desde a antiguidade, e recentemente foram consideradas como alimentos funcionais (WONGWATTANASATHIEN et al., 2010). Nos Estados Unidos, as plantas como a borragem (*Borago officinalis*), violeta (*Viola tricolor*) e capuchinha (*Tropaeolum majus*) são muito utilizadas como temperos (MLCEK e ROP, 2011). A capuchinha (*Tropaeolum majus* L.) e o amor-perfeito (*Viola x wittrockiana*) são flores utilizadas atualmente na gastronomia brasileira (ORR, 2011). A variedade de cores e sabores encontrados em flores comestíveis estão apresentadas na tabela 1.

Tabela 1 - Cor e sabor de diferentes espécies de flores comestíveis

Flor	Nome comum	Cor	Sabor
<i>Begonia x tuberhybrida</i>	Begonia	Diversas	Levemente ácido
<i>Calendula officinalis</i>	Calêndula	Laranja	Levemente picante
<i>Chrysanthemum spp.</i>	Crisântemo	Diversas	Amargo
<i>Rosa ssp.</i>	Rosa	Diversas	Doce
<i>Tagetes patula</i>	Malmequer	Laranja	Amargo, lembra cravo
<i>Tropaeolum majus</i>	Capuchinha	Diversas	Forte, lembra agrião
<i>Tulipa ssp.</i>	Tulipa	Diversas	Doce
<i>Viola x wittrockiana</i>	Amor-perfeito	Diversas	Doce

Fonte: MILCEK e ROP, 2011.

## 2.2 Amor-perfeito (*Viola x wittrockiana*)

Uma das espécies de flores comestíveis de maior consumo é a *Viola x wittrockiana*, uma planta ornamental importante pela sua vasta gama de cores, longa duração da flor e por se adequar ao clima frio. Atualmente, o amor-perfeito possui

grande demanda pois exibe um colorido floral em todos os meses de inverno, período em que apenas algumas plantas estão florescendo (WANG e BAO, 2007; CARAZO e LOPEZ, 2009).

A *Viola x wittrockiana*, pertence a família Violaceae, sendo popularmente conhecida como amor-perfeito, amor-perfeito-de-jardim, viola, pansy ou Violet. Esta planta possui as seguintes características: herbácea perene, delicada, híbrida de *Viola tricolor* L. e provavelmente de *Viola lutea* Huds. com *Viola altaica* Ann., de hastes muito ramificadas, apresentando 20-30 cm de altura. Possui flores vistosas, de 5-13 cm de diâmetro, arredondadas, achatadas, com manchas que se assemelham ao aspecto de uma face humana (bochechas), variadamente coloridas em combinações de branco, roxo, amarelo, róseo e marrom. É amplamente cultivada durante o inverno e primavera, principalmente no sul do Brasil, como uma planta ornamental, normalmente na forma de maciços coloridos em canteiros. Esta planta se adapta em regiões mais frias como o sul do país, e multiplica-se por sementes, que devem ser semeadas no outono (LORENZI e SOUZA, 2001; KINUPP e LORENZI, 2014).

As flores de amor-perfeito apresentam um sabor intenso e podem ser utilizadas em saladas, sobremesas em geral, mousses, sopas, bebidas ou caramelizadas, além de serem muito utilizadas na decoração (KINUPP e LORENZI, 2014).

### 2.3 Composição Química de Flores Comestíveis

Dados sobre o conteúdo de nutrientes em flores são escassos. Cerca de 95% da massa das pétalas das flores consiste em água; portanto, o conteúdo em nutrientes é muito pequeno, assim o valor calórico nas flores é inexpressivo (FELIPPE, 2004). Investigando a composição química de flores de *Opuntia ficus-indica* e *Opuntia stricta*, Ammar et al. (2014) relatam que estas flores no estágio de florescimento pleno podem ser consideradas como uma boa fonte de proteínas, pois fornecem teores semelhantes ou superiores à grande maioria dos vegetais por apresentarem um faixa de 84,6 – 88,3; 1,2 - 1,5; 10,1 -13,1 e 1,2 - 2,3 g.100 g<sup>-1</sup> de umidade, cinzas, proteínas e gordura, respectivamente. Pelo perfil de ácidos graxos foi observado que o ácido palmítico foi o ácido graxo majoritário, entre 38 e 59%.

Barros et al. (2010), relatam em flores de *Malva sylvestris* 372,02 Kcal.100 g<sup>-1</sup> de calorias; e de 72,49; 78,12; 8,50; 2,84; e de 10,54 g.100g<sup>-1</sup> de umidade, carboidratos, proteínas, gorduras e cinzas, respectivamente. Os principais ácidos graxos encontrados nessas flores, foram ácido linolênico (C18: 3), ácido linoleico (C18: 2) e o ácido palmítico (C16: 0). Em relação à composição de açúcares, as flores de *M. sylvestris* apresentaram a frutose como açúcar predominante (8,72 g.100 g<sup>-1</sup>).

Dentre os macronutrientes das flores de *Taraxacum sect. Ruderalia*, os carboidratos foram os principais com 77,46 g.100g<sup>-1</sup>. Nesta fração também foram identificados a frutose, glicose e sacarose. Os teores de umidade, gordura, proteína e cinzas foram de 77,43; 6,56; 15,13; 0,86 g.100 g<sup>-1</sup>, respectivamente. O valor calórico foi de 429,36 Kcal.100 g<sup>-1</sup>. Foram identificados até vinte e seis ácidos graxos nas flores de *Taraxacum*, sendo o ácido linoleico (33,03%) o majoritário, seguido pelos ácidos linolênico (23,14%) e palmítico (17,01%). Este estudo demonstra que flores de plantas como *Taraxacum*, embora não sejam uma referência nutricional comum, podem ser utilizadas em uma base alimentar (DIAS et al., 2014).

Os compostos fenólicos, carotenoides e as vitaminas A, C e E são compostos bioativos conhecidos em plantas (JUDPRASONG et al., 2013). Dados de estudos epidemiológicos tem sugerido que estes compostos presentes em dietas exercem um efeito supressor sobre os radicais livres e, conseqüentemente, um efeito protetor para a saúde humana (CARDOSO et al., 2011). Nile e Park (2013) relatam que uma dieta rica em fitoquímicos pode contribuir para a redução do risco de certos tipos de câncer humano. Segundo Amri et al. (2017), as flores apresentaram maior conteúdo de compostos fenólicos quando comparado com outras partes da planta (casca, fruto, folhas), nas variedades de romã Nana e Tounsi. Compostos fenólicos têm atraído atenção devido às suas atividades biológicas, incluindo efeitos antioxidante e antitumoral (TAI et al., 2011). Shi et al. (2009) investigaram a capacidade antioxidante da flor comestível de *Prunus mume*, oriunda da China, e constataram que os isômeros de ácidos clorogênicos (ácidos 3-O-cafeoilquínico, 4-O-cafeoilquínico e 5-O-cafeoilquínico) são os principais compostos fenólicos responsáveis pela atividade antioxidante do extrato etanólico desta flor. O teor total de compostos fenólicos foi de 149,9±9,7 mg de ácido gálico equivalente por g de peso seco do extrato etanólico de *Prunus mume*. Os ácidos fenólicos predominantes na flor comestível de calêndula (*Tagetes erecta* L.) foram o ácido p-cumárico, ácido

ferrúlico e o ácido sinápico, segundo estudo de Siriamornpun et al. (2012). *Tagetes erecta*, *Cosmos sulphureus*, *Antigonon leptopus* e *Bougainvillea glabra* são flores comestíveis frequentemente utilizadas pela população étnica do norte da Tailândia para a preparação de saladas e chás. Os principais constituintes dos extratos etanólicos destas flores, identificados com o auxílio de cromatografia líquido de alta eficiência (HPLC), foram os ácidos fenólicos (ácido gálico, ácido protocatecuico, ácido hidrozibenzóico, ácido clorogênico, ácido vanílico, ácido caféico, ácido siríngico, ácido p-cumárico, ácido ferrúlico e ácido sinápico) e os flavonoides (rutina, miricetina, quercetina, apigenina e kampferol). *Tagetes erecta* apresentou o maior teor de compostos fenólicos (212,9 mg de ácido gálico equivalente  $\cdot g^{-1}$  de peso seco da amostra), seguido por *Antigonon leptopus* (177,2 mg de ácido gálico equivalente  $\cdot g^{-1}$  de peso seco da amostra), *Bougainvillea glabra* (138,2 mg de ácido gálico equivalente  $\cdot g^{-1}$  de peso seco da amostra) e *Cosmos sulphureus* (102,5 mg de ácido gálico equivalente  $\cdot g^{-1}$  de peso seco da amostra) (KAISSON et al., 2012). Gonçalves et al. (2012) investigaram o conteúdo de compostos fenólicos em raízes, folhas e flores de *Viola tricolor*, obtendo neste estudo o maior conteúdo de compostos fenólicos nos extratos das flores ( $12,84 \pm 0,072$  mg de ácido pirogálico equivalente  $\cdot g^{-1}$  de fração) do que nos extratos de folhas e raízes ( $7,49 \pm 0,002$  mg de ácido pirogálico equivalente  $\cdot g^{-1}$  de fração). O teor total de compostos fenólicos em pétalas de rosa comestível foi de  $2087,43 \pm 17,37$  mg de ácido gálico equivalente  $\cdot 100 g^{-1}$  de pétalas, de acordo com o estudo realizado por GE e MA (2013). Millera et al. (2010) relatam que os teores totais de compostos fenólicos em pétalas de rosas, amor-perfeito, cravos, margaridas e girassol (10-600 mg de ácido gálico equivalente  $\cdot g^{-1}$  amostra seca), foram superiores aos teores encontrados em frutas como amora, mirtilo, ameixa e morango, e ao conteúdo em legumes, como brócolis, repolho e espinafre (0,3 e 3,5 mg ácido gálico equivalente  $\cdot g^{-1}$  amostra seca). O teor de compostos fenólicos em flores de amor-perfeito (*Viola x wittrockiana*) foi investigado por Carazo e Lopez (2009), os quais observaram maior teor nas flores de coloração violeta e amarela (0,171 e 0,1684 mg de ácido gálico equivalente  $\cdot g^{-1}$  de amostra seca, respectivamente).

As antocianinas pertencem à família dos flavonóides e são basicamente responsáveis pelas cores brilhantes de várias frutas, flores e produtos hortícolas (GE e MA, 2013; COSTA et al., 2013). As antocianinas comumente encontradas nas plantas incluem a pelargonidina, delphinidina, peonidina, petunidina e a malvidina (GE

e MA, 2013). As principais antocianinas, o teor de ácido ascórbico e o conteúdo total de compostos fenólicos em pétalas de coloração laranja da flor capuchinha (*Tropaeolum majus*), foram investigados por Garzón e Wrolsad (2009), os quais relatam o conteúdo de antocianina de 72 mg . 100 g<sup>-1</sup> de amostra, com a pelargonidina representando 91% do teor total de antocianinas; o teor de ácido ascórbico de 71,5 mg . 100 g<sup>-1</sup> de amostra; e o teor total de compostos fenólicos de 406 mg de ácido gálico equivalente . 100 g<sup>-1</sup> de amostra.

Os carotenoides constituem um grande grupo de pigmentos lipofílicos, amplamente reconhecidos por seus benefícios para a saúde humana. Uma das principais fontes naturais de carotenoides é a flor de calêndula, que tem sido muito utilizada pela indústria para a produção de corantes ou suplementos alimentares (RODRIGUES et al., 2018). Os carotenoides são responsáveis pelas cores laranja, vermelha e amarela das flores (OHMIYA, 2013). A quantidade destes compostos nas pétalas varia amplamente entre as espécies de plantas. A flor da calêndula (*Tagetes erecta* L.) tem sido muito utilizada como corante em alimentos, suas pétalas são uma excelente e importante fonte de carotenóides, particularmente os carotenóides amarelos, tais como  $\alpha$  e  $\beta$  carotenos e as xantofilas, luteína e zeaxantina (SIRIAMORNPNUN et al., 2012).

Os tocoferóis tem um papel protetor em relação ao estresse oxidativo, evitando doenças cardiovasculares, danos ao DNA e distúrbios na pele (LÓPEZ-CERVANTES et al., 2018). No estudo de Dias et al. (2014), as flores do dente-de-leão (*Taraxacum sect. Ruderalia*) apresentaram teores totais de tocoferóis de 44,76 g . 100 g<sup>-1</sup>, sendo mais elevados do que os teores presentes em outras partes (19,19 g . 100 g<sup>-1</sup>) desta planta. Os teores de  $\alpha$ ,  $\beta$ ,  $\gamma$  e  $\delta$ -tocoferol foram de 21,60; 11,24; 5,61; e 6,31 g por 100 g de flores secas, respectivamente. Barros et al. (2010) relatam que o  $\alpha$  – tocoferol é o principal tocoferol encontrado em diferentes partes da planta *Malva sylvestris*, e nas flores o conteúdo de  $\alpha$ ,  $\beta$ ,  $\gamma$  e  $\delta$ -tocoferol foi de 17,37; 14,03; 0,57; 2,53; e 0,24 mg por 100 g de flores de *Malva sylvestris* secas, respectivamente.

Em relação ao conteúdo de vitamina C, a maior quantidade de ácido ascórbico foi encontrada em flores de *Malva sylvestris* (1,11 mg . g<sup>-1</sup> de extrato), quando comparado com outras partes desta planta (DIAS et al., 2014).

## 2.4 Atividade Antioxidante e Biológica de Flores Comestíveis

As flores comestíveis de plantas ornamentais são uma fonte substancial de compostos químicos que apresentam atividades antioxidantes, as quais possuem acentuado efeito inibidor sobre os radicais livres. Assim, da mesma forma como em outras plantas, existe uma elevada correlação entre o conteúdo de compostos fenólicos e atividade antioxidante em flores comestíveis (MLCEK e ROP, 2011).

Os antioxidantes podem ter vários mecanismos de ação, por isso é utilizado mais de um método para avaliação da sua atividade (LI et al., 2014).

No estudo de Friedman et al. (2010), o extrato etanólico da flor comestível de *Rosa chinensis* apresentou alta atividade antioxidante, cerca de 50 vezes superior a atividade dos extratos de tomate, brócolis e de maçã. Na província de Yunnan, na China, a flor de *Sophora viciifolia* é normalmente utilizada como alimento. Os extratos desta flor demonstraram forte atividade antioxidante por cinco métodos diferentes, pela captura de radical livre DPPH, captura do radical ABTS, poder antioxidante de redução férrica (FRAP), poder redutor de ferro III a ferro II e pela inibição da peroxidação lipídica em tecidos de camundongos. Estes dados sugerem que esta flor proporciona vários compostos funcionais que podem atuar na prevenção de doenças relacionadas com a oxidação de vários produtos do metabolismo humano (TAI et al., 2011). Gonçalves et al. (2012), estudando a atividade antioxidante de flores, folhas e raízes de *Viola tricolor*, obtiveram os maiores valores de DPPH IC50 no extrato de flores (14,18 mg . mL<sup>-1</sup> em flores), do que em extratos contendo folhas e raízes (284,87 µg . mL<sup>-1</sup> para folhas e raízes). Esses resultados indicam que as flores de *V. tricolor*, são uma promissora fonte de antioxidantes naturais. Estes efeitos podem estar relacionados principalmente aos teores de compostos fenólicos e de flavonóides, e em especial a presença de rutina.

No trabalho de Carazo e Lopez (2009), foi determinada a capacidade antioxidante da flor comestível de amor-perfeito (*Viola x wittrockiana*) em flores com diferentes colorações: lilás claro, violeta, lilás-branca; branca-violeta e amarela. A capacidade antioxidante foi determinada pelos métodos TEAC (capacidade antioxidante do equivalente trolox) e ORAC (capacidade antioxidante do radical oxigênio). Foi obtido boa correlação ( $R^2 = 0,977$ ) entre os métodos, o que os valida. Os melhores resultados foram obtidos com as flores de coloração violeta e amarela.

Millera et al. (2010) analisaram a atividade antioxidante de flores comestíveis de diferentes espécies e cores, com o objetivo de incentivar o consumo destas flores na culinária. As flores e suas cores utilizadas foram rosas e amor-perfeito de diversas cores, cravos brancos, margaridas brancas, girassol amarelo e lisianto branco. A atividade antioxidante foi determinada por TEAC (capacidade antioxidante do equivalente trolox) e por ORAC (capacidade antioxidante do radical oxigênio). Das flores comestíveis estudadas, as que obtiveram maior atividade antioxidante foram as rosas, apresentando diferenças significativas entre as diferentes cores. Vukics et al. (2008) estudaram flores violeta, violeta-branca, branca e amarela da flor de amor-perfeito (*Viola x wittrockiana*), avaliando a capacidade antioxidante pelo método TEAC. Neste estudo a maior concentração de flavonoides foi encontrada nas flores de coloração amarela, e uma boa correlação foi obtida entre o teor de flavonoides e a atividade antioxidante. Neste mesmo estudo foi comparado a capacidade antioxidante das espécies de flores *Viola tricolor* L. e *Viola x wittrockiana*, onde as flores de *Viola x wittrockiana* apresentaram a melhor capacidade antioxidante. De acordo com Garzón e Wrolsad (2009), pétalas laranjas da flor capuchinha (*Tropaeolum majus*) exibem excelente atividade antioxidante *in vitro*. A atividade antioxidante medida pelos métodos ABTS e DPPH foram de 458 e 91,87  $\mu\text{m trolox eq} \cdot \text{g}^{-1}$  amostra, respectivamente. Neste estudo também constatou-se que o teor de compostos fenólicos e de ácido ascórbico das flores laranja de capuchinha podem ser exploradas como uma fonte de antioxidantes naturais. Friedman et al. (2005), investigando a atividade antioxidante da flor comestível de capuchinha (*Tropaeolum majus* L.), constataram que as flores de coloração amarela e laranja apresentaram menor atividade antioxidante que as flores de coloração vermelha. Lee et al. (2011), estudando a atividade antioxidante por DPPH de flores vermelhas da rosa comestível na Coreia (*Rosa hybrida* cv. Noblered), obtiveram valor de  $\text{IC}_{50}$  de 55,2  $\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$ , concluindo assim, que as pétalas vermelhas desta flor são uma fonte de alimentos que beneficiam a saúde.

Mlcek e Rop (2011) consideram as flores comestíveis uma nova fonte de alimentos funcionais, e que dentre as propriedades que podem beneficiar a saúde se destaca a atividade antimicrobiana. Os autores relatam que rosas e calêndulas apresentam esta propriedade, e que a atividade das flores de calêndula é devido à presença de flavonoides. No estudo de Abudunia et al. (2017), a atividade antimicrobiana de extratos metanólicos, hexanólicos e aquosos de flores de

*Calendula arvensis*, foi avaliada pelos métodos de difusão em poços, mínima concentração inibitória e mínima concentração bactericida usando várias cepas bacterianas e fúngicas. Os valores de concentração mínima inibitória de extratos metanólicos variaram de 12,5 – 25 mg . mL<sup>-1</sup>, enquanto que para o extrato hexanóico foram entre 6,25-12,5 mg . mL<sup>-1</sup> frente as bactérias *Salmonella aequatoria*, *Salmonella braenderup* e *E. coli*. Os extratos não exibiram atividade em espécies de *Candida*, com exceção do extrato metanólico, o qual demonstrou atividade antifúngica para *Candida tropicalis* 1 e *Candida famata* 1. A atividade antimicrobiana do extrato de *Hibiscus sabdariffa* foi avaliada em oito bactérias diferentes uropatogênicas. Efeitos antimicrobianos significativos, utilizando várias concentrações do extrato, foram observadas contra todas as uropatogênicas isoladas e as estirpes de controle. Os valores de concentração inibitória mínima variaram de 0,5 a 4 mg . mL<sup>-1</sup>, e de concentração bactericida mínima de 8 a 64 mg . mL<sup>-1</sup> (ALSHAMI e ALHARDI, 2014). A atividade antibacteriana do extrato metanólico de *Opuntia ficus – indica* foi avaliada contra bactérias Gram-negativas (*Escherichia coli* e *Pseudomonas aeruginosa*) e bactérias Gram-positivas (*Staphylococcus aureus*, *Bacillus subtilis* e *Listeria monocytogenes*) por Ammar et al. (2015). Neste estudo, dentre os microrganismos testados, *L. monocytogenes* foi o mais sensível, com 25 mm de zona de inibição, seguido por *S. aureus* (13,1 mm); no entanto, não ocorreu atividade antibacteriana em relação à bactéria *P. Aeruginosa*.

## 2.5 Preferência por cor de flores comestíveis

O aroma, cor, forma e beleza de flores comestíveis atraem consumidores para experimentar alimentos florais, que podem ser oferecidos frescos ou secos (CHEN et al., 2017). Kelley et al. (2001), avaliou a preferência de flores comestíveis em relação aos atributos visual, aroma e sabor. Estes autores relataram que a cor foi o atributo mais influente na compra de flores comestíveis por consumidores. Além disso, os consumidores preferiram uma mistura de cores de flores sobre cores únicas, e algumas cores específicas foram preferidas sobre outras cores. A maioria dos consumidores escolheram as cores amarela e laranja, em comparação com a cor azul e combinações de outras cores.

### **3 Capítulo 1 - Composição Proximal, Conteúdo de Compostos Bioativos e Preferência por Cor de Flores de *Viola x wittrockiana***

#### **1 Introdução**

Flores comestíveis apresentam uma variedade de cores, sabores e formas, que podem ser utilizadas frescas ou como ingredientes para saladas, sopas, guarnições, sobremesas e bebidas (KAISOON et al., 2012; PIRES et al., 2017). A *Viola x wittrockiana* é uma flor comestível conhecida como amor-perfeito, sendo muito utilizada na gastronomia brasileira (ORR, 2011), por exibir um colorido floral durante os meses de inverno, quando poucas plantas estão florescendo (WANG e BAO, 2007). Segundo Kinupp e Lorenzi (2014), esta flor é considerada uma PANC (planta alimentícia não convencional), por não fazer parte do uso corrente na alimentação, mesmo que sazonal, mas que apresenta potencial de alto valor nutricional e como fonte de compostos bioativos, como flavonoides e antocianinas (KAISOON et al., 2012).

Segundo Dias et al. (2014) as características funcionais e nutricionais de flores comestíveis podem ser exploradas, embora estas não sejam uma referência nutricional comum. As plantas são fontes de ácidos graxos insaturados, como os ácidos linoleico e linolênico, os quais não são sintetizados pelo homem, e por conseguinte, requisitos nutricionais importantes (BARROS et al., 2010).

Dados de estudos epidemiológicos tem sugerido que compostos bioativos presentes em dietas exercem uma efeito sinérgico sobre os radicais livres e, conseqüentemente, um efeito protetor para a saúde (CARDOSO et al., 2011). No Brasil, ainda são poucos os trabalhos científicos e pequena a divulgação sobre as plantas alimentícias não convencionais (PANC). Dados sobre processos de extração e quantificação de compostos bioativos em flores comestíveis ainda são insipientes, e pouco se conhece sobre o sistema de solvente e tempo utilizados nestes processos, principalmente para pétalas de *Viola x wittrockiana*. Alguns trabalhos relatam o total de compostos bioativos em flores de amor-perfeito, mas com pouca informação sobre o conteúdo destes compostos em diferentes colorações destas flores.

Embora hajam poucos estudos que são promissores em termos do conteúdo de compostos bioativos em flores comestíveis, praticamente não há informações sobre a aceitação sensorial destas flores por parte dos consumidores; assim é importante verificar esta aceitação para o uso na nutrição humana (BENVENUTI et al., 2016).

Assim, os objetivos deste estudo foram caracterizar um mix de flores de *Viola x wittrockiana*, quanto a composição proximal e perfil de ácidos graxos, assim como avaliar os compostos bioativos de 22 colorações diferentes desta flor, otimizando o processo de extração dos compostos fenólicos e aplicar teste sensorial de preferência da cor.

## **2 Material e Métodos**

### **2.1 Cultivo de Flores de *Viola x wittrockiana***

Foi cultivado um mix de flores da espécie *Viola x wittrockiana*, na floricultura da coordenadoria de agricultura do câmpus Pelotas – Visconde da Graça do Instituto Federal Sul-rio-grandense (IFSUL) da cidade de Pelotas, RS, Brasil, de março a setembro de 2014. As sementes comerciais de *Viola x wittrockiana*, de diferentes cores (figura 1), foram semeadas em bandejas multicelulares de poliestireno expandido, compostas por 128 células de 12,0 x 5,0 cm, e preenchidas com substrato comercial próprio para semeadura de flores. Foi colocada uma semente em cada célula, as bandejas foram levadas para a estufa de produção de mudas com a irrigação diária por nebulização. Após o crescimento de dois pares de folhas verdadeiras, foi realizado o transplante para recipiente de cultivo de 350 mL (sacos plásticos), os quais foram preenchidos com substrato comercial e colocados em estufa de produção até o ponto de coleta das flores. As plantas foram irrigadas e observadas diariamente, e assim que se observava a abertura da flor, era realizada a coleta. Depois de coletadas, parte das pétalas foram misturadas em proporções equivalentes de cores e liofilizadas (marca Liotop, modelo L101), nas condições de -55°C de temperatura e de 100 mmHg de pressão. Após o processo de liofilização, as amostras foram armazenadas a -80°C até a realização das análises proximal e perfil de ácidos graxos. Outra parte das pétalas foram separadas por cores, e

armazenadas a  $-80^{\circ}\text{C}$  até a realização das análises de conteúdo de compostos bioativos.



Figura 1 - Fotos das flores de *Viola x wittrockiana*.

A – amarela com asa vermelha, B – amarela com mancha rosa, C – amarela com mancha vermelha, D - amarela, E – azul com mancha roxa, F – azul e branca, G – azul e violeta, H – azul, I – branca com mancha rosa, J – branca com mancha roxa, K – branca, L – laranja, M – lavanda, N – lilás com mancha roxa, O – rosa com mancha lilás, P – rosa, Q – roxa e branca, R – roxa e laranja, S – roxa, T – vermelha com mancha rubi, U – vermelha, V- violeta e amarela.

## 2.2 Caracterização do Mix de Flores

### 2.2.1 Composição Proximal

A composição proximal foi determinada segundo metodologias da AOAC (AOAC, 2000). O teor de proteína bruta ( $N \times 6,25$ ) foi estimado pelo método de macro-Kjeldahl; a gordura bruta foi determinada pela extração com éter de petróleo, utilizando o extrator de Soxhlet; o teor de cinzas foi determinado por incineração a  $550 \pm 15^\circ\text{C}$ ; e o teor de umidade foi determinado por aquecimento em estufa a  $105^\circ\text{C}$ . Os carboidratos foram determinados por diferença, segundo a equação:  $\text{carboidratos (g)} = 100\text{g} - (\text{g de proteínas} + \text{g de gordura} + \text{g cinzas})$ . A energia total foi calculada de acordo com a equação:  $\text{Energia (kcal / 100g)} = [4 \times (\text{g de proteínas} + \text{g de carboidratos}) + 9 \times (\text{g de gordura})]$  (ANVISA - BRASIL, 2003).

### 2.2.2 Perfil de ácidos graxos

A composição em ácidos graxos das pétalas de *Viola x wittrockiana* foi realizada através de cromatografia gasosa, segundo metodologia descrita por Zambiasi (1997). Após a derivatização da amostra, foi injetado  $0,5 \mu\text{L}$  de amostra no cromatógrafo gasoso equipado com split e detector de ionização de chama (FID), coluna capilar de  $30 \text{ m} \times 0,25 \text{ mm i.d.}$ , com fase estacionária de  $0,2 \mu\text{m}$  de cyanopropyl phenyl-bicyanopropyl polysiloxane. A temperatura inicial da coluna foi de  $130^\circ\text{C}$  por 1 minuto, tendo sido programada a elevação da temperatura de  $3^\circ\text{C}/\text{min}$  até alcançar  $145^\circ\text{C}$ ,  $1,2^\circ\text{C}/\text{min}$  até  $165^\circ\text{C}$  e por fim,  $2,5^\circ\text{C}/\text{min}$  até  $220^\circ\text{C}$ . A cada estágio do programa a temperatura foi mantida por 1; 1,5; 0,5 e 1,5 minutos, respectivamente. Os ácidos graxos foram identificados pela comparação com os tempos de retenção dos padrões de ésteres metílicos dos ácidos caproico, caprílico, cáprico, caproleico, láurico, isomirístico, mirístico, miristoleico, pentadecanoico, palmítico, palmitoleico, margárico, esteárico, oleico, linoleico, linolênico, araquídico, gadoleico, eicosadienoico, eicosatrienoico, eicosatetraenoico, eicosapentaenoico, docasanoico, cetoleico, docosadienoico, docosahexaenoico, tricosanoico, lignocérico e nervônico (Sigma Chemicals Co., St. Louis, EUA). Os resultados foram expressos em percentual relativo de ácidos graxos.

## 2.3 Otimização do Processo de Extração dos Compostos Fenólicos

### 2.3.1 Extração e Quantificação do Total de Compostos fenólicos de *Viola x wittrockiana*

As flores de coloração “amarela com mancha vermelha” (figura 1 - C) foram utilizadas para o estudo das condições de extração dos compostos fenólicos, através de delineamento inteiramente casualizado em esquema bifatorial, onde fator A corresponde ao solvente e o fator B ao tempo. As pétalas (1g) foram diluídas em 10 mL dos solventes: água, metanol e etanol, individualmente. Os tempos de imersão nos solventes avaliados foram uma, três e vinte e quatro horas, a 25°C. O extrato final foi obtido por filtração em papel filtro Whatman Nº 1, em balão de 100 mL e completado o volume com o solvente de extração. O método de extração de compostos fenólicos foi baseado no método de Singleton e Rosi (1965).

O teor total de compostos fenólicos foi determinado por espectrofotometria, utilizando o método do reagente de Folin-Ciocalteu, conforme Singleton e Rosi (1965). Adicionou-se 10 mL de água destilada e 0,5 mL de reagente de Folin-Ciocalteu em 1 mL de extrato, deixando reagir por 3 minutos. Adicionou-se 1,5 mL de carbonato de sódio 20%, deixando reagir por 2 horas e realizou-se a leitura de absorbância utilizando comprimento de onda de 760 nm. Os resultados obtidos foram expressos como mg de ácido gálico equivalente por grama ou 100 gramas de pétalas de *Viola x wittrockiana* em base úmida (b.u.).

## 2.4 Determinação de Antocianinas e Flavonoides

O teor de antocianinas e flavonoides foram determinados de acordo com método descrito por Francis (1982) adaptado. Suspendeu-se 1g de flores em 10mL de solução de extração (1,5N HCl em etanol a 85%) em tubo falcon de 50mL. Homogeneizou-se por 2 min em vortex e completou-se o volume para 50 mL com a solução extratora. Deixou-se no escuro e refrigerado durante 12 horas. Após foi filtrado em papel filtro whatman nº1, colocado 1000µL do filtrado num balão de 10mL. Realizou-se as leituras das absorbâncias em 535 nm e 374 nm, e fez-se o

cálculo através da equação: Teor de antocianinas ou flavonoides =  $(ABS \times \text{fator de diluição} \times 1000) / (\text{Peso amostra} \times \text{Coeficiente absorção})$ . Para determinar o teor de antocianinas utiliza-se na equação a ABS de 535 nm e o coeficiente de absorção de  $982 \text{ (g/100mL)}^{-1} \cdot \text{cm}^{-1}$ . Para determinar o teor de flavonoides utiliza-se na equação a ABS de 374 nm e o coeficiente de absorção de  $766 \text{ (g/100mL)}^{-1} \cdot \text{cm}^{-1}$ .

## 2.5 Análise Sensorial de Preferência

Foi realizado um teste de preferência em relação à coloração da flor de amor-perfeito, para a possível utilização em pratos doces e salgados. O teste foi submetido para emails de professores e de alunos do Curso de Gastronomia da Universidade Federal de Pelotas (UFPEL) e do Curso de Panificação e Confeitaria do Instituto Federal do Rio Grande do Sul (IFRS), utilizando um formulário criado no Google docs, através do link <http://goo.gl/forms/aBXAwZGfgw>. No formulário foram apresentados fotos das flores (figura 1), e 53 participantes marcaram a cor da flor que utilizariam nos pratos doces e salgados, sendo que poderiam escolher mais de uma opção.

## 2.6 Análise Estatística

Os resultados dos teores de compostos fenólicos, antocianinas e flavonoides foram realizados em triplicata e avaliados através da análise de variância ANOVA e pelo teste de Tuckey, ambos a 5% de significância, para comparação de médias. A correlação de Pearson foi conduzida para determinar a relação entre os teores de compostos fenólicos, antocianinas e flavonoides, considerando o coeficiente de correlação (r). Os resultados do teste de preferência foram avaliados através de análise de frequência.

### 3 Resultados e Discussão

#### 3.1 Composição Proximal

Na tabela 1 são apresentados os resultados de composição proximal e da energia total do mix das flores de *Viola x wittrockiana*.

Tabela 1 - Composição proximal e energia total de flores de *Viola x wittrockiana*

Proteína Bruta*	Gordura*	Cinzas*	Carboidratos*	Umidade**	Energia Total***
10,14 ± 0,69	1,67 ± 0,04	7,92 ± 0,58	80,27	87,76 ± 0,65	376,67

\* Teores expressos em gramas por 100 gramas de matéria seca;

\*\* Teores expressos em gramas por 100 gramas de matéria úmida;

\*\*\* Resultado expresso em Kcal por 100 gramas de matéria seca.

Verificou-se um teor de umidade próximo a 90% nas flores de amor-perfeito. Após a liofilização o teor de umidade ficou em 8.92%. No trabalho de Pires et al. (2017), as pétalas de quatro flores comestíveis foram caracterizadas quanto ao seu valor nutricional, e verificou-se que os carboidratos foram os macronutrientes mais abundantes (86,22 g; 86,12 g; 81,32 g; 88,39g por 100 g de matéria seca de dália, rosa, calêndula e centauréia; respectivamente), seguido das proteínas (5,93 g; 7,58 g; 6,43 g; 5,79 g por 100 g de matéria seca de dália, rosa, calêndula e centauréia; respectivamente). O mesmo foi obtido para pétalas de amor perfeito no presente estudo, onde o teor de carboidratos foi de 80,27% e de proteínas 10,14%.

O aspecto altamente positivo foi o elevado conteúdo protéico (10,14%), o que não é comum na maioria de frutos e hortaliças, sendo, portanto, além do aporte decorativo, uma fonte protéica complementar na alimentação. Ammar et al. (2014) relata teor semelhante de proteína nas flores de *Opuntia stricta* no estágio de florescimento pleno, sendo de 10,1 g por 100 g de flores secas.

A energia total de pétalas de *Viola x wittrockiana* (376,67 kcal / 100 g de amostra seca) foi aproximada a energia total obtida nas pétalas de *Centaurea cyanus* L. (377, 99 Kcal . 100 g<sup>-1</sup> de amostra seca), e nas flores de *Malva sylvestris* (372,02 Kcal . g<sup>-1</sup> de amostra seca), segundo os estudos de Pires et al. (2017) e Barros et al. (2010), respectivamente.

Villavicencio et al. (2018), determinaram a composição química das flores de *Bauhinia variegata* L. var. *Candida alba* Buch.-Ham do Brasil, obtendo resultados

semelhantes de carboidratos (77,10 g por 100g) e de proteínas (10,90 g por 100g) das flores de amor-perfeito avaliadas no presente estudo. Porém estes autores encontraram valor superior do teor de gordura (7 g por 100g), e por consequência uma energia total de 415 Kcal por 100g de amostra, superior a energia total de flores de *Viola x wittrockiana*.

Através da tabela brasileira de composição de alimentos (TBCA, 2017), a alface, hortaliça bastante utilizada em saladas como as flores de amor-perfeito, possui teores de nutrientes inferiores as flores, apresentando 1,8 g de carboidratos, 1,09 g de proteínas, 0,13 g de gorduras e 0,56 g de cinzas por 100g de alface.

### 3.2. Perfil de Ácidos Graxos

Os resultados obtidos referentes ao perfil de ácidos graxos nas pétalas de amor-perfeito (*Viola x wittrockiana*) estão na tabela 2. Foram identificados os seguintes ácidos graxos saturados, em ordem relativa % decrescente: ácido palmítico (C16:0), ácido araquídico (C20:0), ácido mirístico (C14:0), ácido esteárico (C18:0), ácido tricosanoico (C23:0) e ácido láurico (C12:0); além dos seguintes ácidos graxos insaturados em ordem relativa % decrescente: ácido linoleico (C18:2) e ácido oleico (C18:1). Os ácidos graxos saturados perfizeram 59,43% do total de ácidos graxos. Salienta-se o alto conteúdo de ácido palmítico (C16:0), que foi o ácido graxo majoritário, e do ácido linoleico e seu isômero (32,30%). Este valor é importante porque o ácido linoleico é um ácido graxo essencial, denominado ácidos graxo ômega-6, o qual não pode ser sintetizado pelo corpo humano e precisa ser unicamente fornecido através da dieta (BARROS et al., 2010; DORNI et al., 2018). Os conteúdos de ácido linoleico de várias frutas e hortaliças, segundo Martin et al. (2006), foram inferiores ao conteúdo desse ácido graxo obtido na flor de *Viola x wittrockiana* do presente estudo, variando de 0,03 a 0,18g . 100 g<sup>-1</sup> de fruta ou hortaliça.

No trabalho de Pires et al. (2017), a fração da gordura das pétalas de *Dahlia* e de duas espécies de rosa (*Rosa damascena* Alexandria e *Rosa gallica* Francesa, apresentaram a maior porcentagem relativa do ácido palmítico dentre os ácidos graxos saturados, e do ácido linoleico dentre os ácidos graxos insaturados, valores

que foram condizentes com os obtidos no presente estudo para as pétalas de *Viola x wittrockiana*.

Houve predominância de ácidos graxos saturados, 62,62% e 77,13% em flores de *Opuntia ficus – indica* e *Opuntia strict*, respectivamente, quando investigada a composição de ácidos em plena floração dessas espécies (AMMAR et al., 2014). O ácido palmítico foi o ácido graxo majoritário nas duas espécies, com porcentagem relativa de 43,03% e 59,52% para flores de *Opuntia ficus – indica* e *Opuntia strict*, respectivamente. O mesmo ocorreu nas pétalas de *Viola x wittrockiana*, sendo a porcentagem relativa do ácido palmítico muito semelhante com as flores de *Opuntia strict*.

Os teores de ácidos graxos saturados, monoinsaturados e polinsaturados das flores do presente foram superiores a alface lisa, segundo tabela brasileira de composição de alimentos (TBCA, 2017), a qual apresenta 0,2 g, traços e 0,08 g por 100 g de alface, de ácidos graxos saturados, monoinsaturados e polinsaturados, respectivamente.

Tabela 2 - Composição de ácidos graxos (% relativa) em flores de *Viola x wittrockiana*

<b>Ácido Graxo</b>	<b>Porcentagem relativa (%)</b>
<b>C6:0</b> (ácido caproico)	Nd
<b>C8:0</b> (ácido caprílico)	Nd
<b>C10:0</b> (ácido cáprico)	Nd
<b>C11:0</b> (ácido caproleico)	Nd
<b>C12:0</b> (ácido láurico)	1,01
<b>C13:0</b> (ácido isomorístico)	Nd
<b>C14:0</b> (ácido mirístico)	5,40
<b>C14:1</b> (ácido miristoleico)	Nd
<b>C15:0</b> (ácido pentadecanoico)	Nd
<b>C16:0</b> (ácido palmítico)	36,41
<b>C16:1</b> (ácido palmitoleico)	Nd
<b>C17:0</b> (ácido margárico)	Nd
<b>C18:0</b> (ácido esteárico)	4,44
<b>C18:1</b> (ácido oleico)	8,27
<b>C18:2</b> (ácido linoleico)	15,35
<b>C18:2</b> (ácido linoleico)	16,95
<b>C18:3</b> (ácido linolênico)	Nd
<b>C20:0</b> (ácido araquídico)	10,65
<b>C20:1</b> (ácido gadoleico)	Nd
<b>C20:2</b> (ácido eicosadienoico)	Nd
<b>C20:3</b> (ácido eicosatrienoico)	Nd
<b>C20:4</b> (ácido eicosatetraenoico)	Nd
<b>C20:5</b> (ácido eicosapentaenoico)	Nd
<b>C22:0</b> (ácido docasanoico)	Nd
<b>C22:1</b> (ácido cetoleico)	Nd
<b>C22:2</b> (ácido docosadienoico)	Nd
<b>C22:6</b> (ácido docosahexaenoico)	Nd
<b>C23:0</b> (ácido tricosanoico)	1,52
<b>C24:0</b> (ácido lignocérico)	Nd
<b>C24:1</b> (ácido nervônico)	Nd
<b>Total de Ácidos Graxos Saturados</b>	59,43
<b>Total de Ácidos Graxos Monoinsaturados</b>	8,27
<b>Total de Ácidos Graxos Polinsaturados</b>	32,30

nd = não detectado.

### 3.3 Extração do Total de Compostos Fenólicos de *Viola x wittrockiana*

Os resultados da avaliação do efeito da utilização de diferentes solventes e tempos de extração sobre o teor de compostos fenólicos nas pétalas de *Viola x wittrockiana* são apresentados na tabela 3.

Tabela 3 - Teor de compostos fenólicos (miligramas de ácido gálico equivalente por gramas de flores de *Viola x wittrockiana*), utilizando diferentes solventes e tempos no processo de extração

Solventes	Tempo de extração (h)	Teor de compostos fenólicos*
H <sub>2</sub> O	1	2,16 ± 0,64 c
H <sub>2</sub> O	3	1,75 ± 0,39 cd
H <sub>2</sub> O	24	0,80 ± 0,25 d
Metanol	1	4,14 ± 0,23 b
Metanol	3	4,86 ± 0,41 ab
Metanol	24	4,14 ± 0,15 b
Etanol	1	5,17 ± 0,22 ab
Etanol	3	5,68 ± 0,25 a
Etanol	24	6,08 ± 0,27 a

Valores médios. As médias seguidas por diferentes letras na mesma coluna diferem estatisticamente entre si, ao nível de 5% de probabilidade.

\*Teor de compostos fenólicos expresso em miligramas de ácido gálico equivalente por grama de flores de *Viola x wittrockiana*

Quando foi utilizado etanol na extração deixando vinte quatro horas de imersão foi obtido 6,08 mg de ácido gálico equivalente . g<sup>-1</sup> de amostra. Embora esta condição (etanol/24 horas) tenha apresentado maior valor, não apresentou diferença significativa quando utilizado os seguintes solventes e tempos de extração: etanol e três horas; etanol e uma hora; metanol e três horas. Porém, a extração realizada com etanol durante vinte quatro horas, apresentou diferença significativa quando utilizado água como solvente nos três tempos de extração, e quando utilizado metanol como solvente nos tempos de extração de uma e vinte quatro horas. Quando se utilizou água como solvente, foram obtidos os menores teores de compostos fenólicos, independente dos tempos de extração avaliados.

Ammar et al. (2015), estudando o efeito da utilização de diferentes solventes sobre os teores de compostos fenólicos nas flores de *Opuntia ficus-indica*, verificaram que quando utilizaram solventes polares, como metanol e água obtiveram maior extração de compostos fenólicos.

No estudo de Sindi et al. (2014), foi avaliado o efeito do tempo de extração (3, 5 e 10 min) sobre o teor total de polifenóis de *Hibiscus sabdariffa*, tendo sido observada uma diferença significativa entre 3 min e 10 min de extração, sendo que no tempo de 10 min a extração destes compostos foi superior. Assim, foi considerado para análises posteriores de determinação do total de compostos fenólicos, o maior tempo de extração (24h) e etanol como solvente, por apresentar o maior teor de compostos fenólicos das flores de amor-perfeito.

### **3.4 Quantificação do Total de Compostos Fenólicos, Antocianinas e Flavonoides**

Os teores do total de compostos fenólicos obtidos em diferentes colorações de flores de *Viola x wittrockiana*, são apresentados na tabela 4.

Os teores de compostos fenólicos obtidos nas pétalas de diferentes colorações variaram de 73 a 1033,5 mg de ácido gálico equivalente por 100 g de amostra, com uma diferença de conteúdo de até 14 vezes. Estes resultados foram aproximados aos obtidos por Li et al. (2014), os quais realizaram a quantificação de compostos fenólicos de 51 flores comestíveis, encontrando conteúdos que variaram de 13 a 1148 mg de ácido gálico equivalente por 100 g de amostra.

As pétalas de coloração “azul e violeta” apresentaram o maior teor de compostos fenólicos, porém não houve diferença significativa do teor dos compostos fenólicos desta coloração em comparação com o teor das pétalas de colorações “amarela com asa vermelha”, “amarela com mancha rosa” e “azul com mancha roxa”. Como as colorações “azul e violeta” e “azul com mancha roxa” das pétalas são muito semelhantes, não foi observado diferença significativa no conteúdo de compostos fenólicos.

Tabela 4 - Teor total de compostos fenólicos (CFT), antocianinas (AT) e flavonoides (FT) de flores de *Viola x wittrockiana* de diferentes colorações

Colorações de pétalas	CFT*	AT**	FT**
Azul e Violeta	1033,50 ± 38,89 a	383,13 ± 48,64 b	787,46 ± 48,56 ab
Azul com mancha Roxa	869,50 ± 20,51 ab	211,89 ± 25,89 cd	662,41 ± 7,27 abc
Amarela com asa Vermelha	797,00 ± 69,30 abc	128,19 ± 60,15 defg	504,29 ± 85,96 cd
Amarela com mancha Rosa	787,50 ± 16,26 abc	68,49 ± 12,15 ghi	670,19 ± 119,31 abc
Vermelha com mancha Rubi	753,00 ± 2,82 bcd	439,91 ± 25,21 b	471,58 ± 4,28 cde
Lilás com mancha Roxa	743,00 ± 176,78 bcd	193,84 ± 16,77 cde	473,07 ± 24,68 cde
Laranja	732,50 ± 0,71 bcd	2,63 ± 0,15 i	824,84 ± 164,25 a
Amarela	725,50 ± 106,77 bcd	5,04 ± 0,00 i	663,73 ± 0,91 abc
Azul	716,50 ± 94,04 bcd	70,67 ± 0,14 ghi	649,57 ± 16,63 abc
Branca com mancha Roxa	716,00 ± 36,77 bcd	80,20 ± 17,76 fghi	655,76 ± 35,95 abc
Violeta e Amarela	661,00 ± 4,24 bcde	242,53 ± 15,11 c	577,36 ± 21,47 bcd
Amarela com mancha Vermelha	607,50 ± 27,58 bcde	86,79 ± 0,27 fghi	554,06 ± 40,33 cd
Roxa e Laranja	604,5 ± 82,73 bcde	114,39 ± 12,31 efgh	423,12 ± 68,71 def
Branca com mancha Rosa	604,00 ± 60,81 bcde	115,33 ± 2,41 efgh	497,73 ± 28,65 cde
Azul e Branca	582,50 ± 67,17 cde	48,01 ± 8,90 ghi	531,61 ± 8,05 cd
Roxa e Branca	517,00 ± 32,53 de	172,34 ± 22,85 cdef	376,89 ± 11,99 def
Vermelha	517,00 ± 94,75 de	376,58 ± 13,44 b	421,77 ± 45,23 def
Roxa	508,50 ± 30,41 de	543,49 ± 44,43 a	200,99 ± 22,27 fg
Rosa com mancha Lilás	498,00 ± 9,90 de	233,41 ± 29,95 c	276,26 ± 48,41 efg
Rosa	412,00 ± 91,92 e	450,72 ± 5,00 ab	422,96 ± 4,16 def
Lavanda	78,00 ± 22,63 f	26,50 ± 3,13 hi	60,38 ± 10,32 g
Branca	73,00 ± 22,63 f	0,54 ± 0,16 i	100,71 ± 39,67 g

Valores médios. As médias seguidas por diferentes letras na mesma coluna diferem estatisticamente entre si, ao nível de 5% de probabilidade.

\*miligrama de ácido gálico equivalente por 100 gramas de flores de *Viola x wittrockiana*;

\*\*miligrama por 100 gramas de flores de *Viola x wittrockiana*.

Os menores teores de compostos fenólicos foram obtidos nas pétalas de colorações mais claras (“branca” e “lavanda”). Esses resultados estão de acordo com os encontrados por Carazo e Lopez (2009), os quais investigaram os teores de compostos fenólicos de flores de *Viola tricolor*, e os maiores teores foram obtidos nas flores de coloração violeta e amarela (17,1 e 16,84 mg de ácido gálico equivalente . 100 g<sup>-1</sup> de amostra seca, respectivamente). Neste estudo os autores relatam que a concentração de polifenóis está relacionada com pigmentos das pétalas, onde tons azuis e púrpuras se devem às antocianinas, os tons amarelos devido às flavonas e que tons mais claros contém menor quantidade de polifenóis (branco e lilás-claro).

As antocianinas são pigmentos naturais de plantas e, conseqüentemente, estão presentes em flores em quantidades superiores do que em folhas, devido ao

colorido das pétalas (VUKICS et al., 2008). Os teores de antocianinas obtidos nas pétalas de diferentes colorações variaram de 0,54 a 543,49 mg por 100 g de amostra, com uma diferença de aproximadamente 1000 vezes entre as diferentes flores. Os teores de antocianinas foram superiores aos teores encontrados em diversas flores comestíveis, de acordo com o estudo de Benvenute et al. (2016). Segundo o estudo destes autores, os teores de antocianinas das flores de coloração “azul”, “vermelha” e “rosa e amarela” variaram de 1,43 a 13,6; de 5,09 a 14,44; e de 9,73 a 12,85 mg de cyn-3-glu equivalente por 100g de peso fresco, respectivamente.

As pétalas de colorações “roxa” e “rosa” do presente estudo apresentaram os maiores teores de antocianinas dentre as pétalas avaliadas. Segundo Benvenute et al. (2016), o conteúdo de antocianinas estão diretamente relacionados com a coloração da flor dentro de uma mesma espécie. Como esperado, uma concentração maior de antocianinas nas pétalas de coloração vermelha ou rosa em relação às pétalas de colorações mais brancas, foi confirmada na espécie de *Viola x wittrockiana*. Nesta variedade, as pétalas de cor azul e violeta apresentaram conteúdos de antocianinas similares ao conteúdo das pétalas de cor vermelha.

A diferença no conteúdo de flavonoides foi de aproximadamente 12 vezes, variando de 69,38 a 824,84 mg por 100 g de pétalas de *Viola x wittrockiana*. As pétalas com colorações que apresentaram os maiores teores de flavonoides não foram necessariamente as mesmas que apresentaram os maiores teores de antocianinas, indicando a presença de outros compostos. Pelo relato de Gonçalves et al. (2012), a flor de *Viola tricolor* é uma promissora fonte de antioxidantes naturais, devido aos altos teores de flavonoides, em especial da rutina, flavonoide majoritário identificado nesta flor.

No presente estudo, verificou-se um maior teor de flavonoides nas flores onde as pétalas apresentaram coloração “amarela” ou “laranja”. O trabalho de Vukics et al. (2008) corrobora com este relato, no qual foi obtido maior teor de flavonoides na flor de coloração “amarela” de amor-perfeito (*Viola tricolor* e *Viola x wittrockiana* Gams.), quando comparado com as flores de cores “violeta”, “amarelo” e “branco”.

Observou-se uma variação do teor total de antocianinas em relação ao teor total de compostos fenólicos de 0,36 a 109,40%. As pétalas de colorações “rosa”, “roxa”, “vermelha” e “vermelha com mancha rubi” apresentaram a maior proporção de conteúdo total de antocianinas em relação ao conteúdo total de compostos

fenólicos, sendo esta proporção de 109,40; 106,88; 72,84; 58,42%; respectivamente. As pétalas com outras colorações obtiveram uma proporção inferior a 50% do teor total de antocianinas em relação ao teor total de compostos fenólicos, sendo que para as pétalas de colorações “branca”, “amarela” e “laranja” essa proporção foi inferior a 1%.

As pétalas de colorações “roxa” e “rosa com mancha lilás”, apresentaram teor total de flavonoides em relação ao teor total de compostos fenólicos de 39,53 e 55,47%, respectivamente. No restante das pétalas que possuem outras colorações essa relação do teor do total de flavonoides em comparação com o teor total de compostos fenólicos foi superior a 60%, sendo obtido proporções acima de 100% para as pétalas de colorações “branca” (137,96%), “Laranja” (112,61%) e “rosa” (102,66%).

Observa-se pelos dados que a soma dos teores de antocianinas e de flavonoides são no geral um pouco superiores aos teores do total de compostos fenólicos, o que a princípio não deveria ocorrer porque as antocianinas e os flavonoides fazem parte dos compostos fenólicos. Porém, de acordo com Li et al. (2014), diferentes compostos fenólicos podem apresentar diferentes respostas ao reagente Folin-ciocalteu, onde vários flavonoides apresentam baixa absorção, o que leva a uma subestimação do total de compostos fenólicos. Kaisoon et al. (2011) também relatam que extratos de flores comestíveis apresentaram teores de flavonoides superiores aos teores de compostos fenólicos. Naquele estudo, flores de *Tagete erecta* apresentaram teores de flavonoides de 67,9 mg de equivalente rutina . g<sup>-1</sup> amostra seca, comparado ao conteúdo de compostos fenólicos de 64,3mg de equivalente rutina . g<sup>-1</sup> amostra seca.

A correlação entre o teor total de compostos fenólicos e antocianinas, e entre o teor total de compostos fenólicos e flavonoides foi de 0,15 e 0,86, respectivamente. Assim obteve-se uma melhor correlação entre o teor de compostos fenólicos e flavonoides, o mesmo foi obtido para a flor de *Sophora vicifolia*, segundo Tai et al. (2011), que mostrou uma boa correlação (0,96) entre o conteúdo total fenólico e o teor de flavonoides, relatando que os flavonoides são um importante grupo fenólico no extrato desta flor, e o maior conteúdo de compostos fenólicos pode ser atribuído ao maior conteúdo de flavonoides.

A correlação entre os teores totais de antocianinas e flavonoides foi de -0,15, isto ocorre devido ao método utilizado para determinação destes compostos bioativos, pois embora seja o mesmo método, é realizada leitura em comprimentos de onda diferentes.

### 3.5 Análise Sensorial de Preferência

A inclusão de flores comestíveis em pratos, bebidas e sobremesas pode ser uma maneira de diferenciação de produtos e aprimoramento de serviços (CHEN e WEI, 2017). Consumidores utilizam de forma intuitiva, como estratégia de escolha de alimentos saudáveis, alimentos que possuam uma variedade de cores (KÖNIG e RENNERT, 2018). A utilização das flores na gastronomia, torna os pratos mais atraentes pela coloração que exibem.

Segundo Benvenuti et al. (2016), as cultivares de flores com mais intensidade de cores (como as vermelhas e azuis) são as mais adequadas e as mais preferidas para uma evolução gastronômica e nutracêutica em termos de descoberta de novos alimentos e novos pratos. Corroborando com este relato, no presente estudo as pétalas de colorações “azul e branca” e “vermelha com mancha rubi” de *Viola x wittrockiana* foram as preferidas por mais de 50% dos participantes do teste sensorial (Figura 2). Catorze das flores com colorações diferentes foram preferidas por 30 – 40% dos julgadores. As pétalas de coloração “amarela com asa vermelha” e “azul e violeta”, foram escolhidas por 20% dos participantes, representando a menor preferência de colorações de flores avaliadas.

No estudo de Chen e Wei (2017), foram investigados os fatores que afetam as atitudes dos consumidores para o consumo de flores comestíveis. Curiosidade foi o fator de maior influência nas atitudes em relação ao consumo dessas flores. Outros participantes deste estudo enfatizaram os possíveis benefícios para saúde que as flores comestíveis podem oferecer. Assim os autores desse estudo relatam que as propriedades estéticas, como a cor, e as propriedades relacionadas à saúde, fazem com que as flores comestíveis representem nicho de mercado promissor.

Embora as colorações de flores de amor-perfeito com preferência acima de 50%, não serem as mesmas colorações que obtiveram os maiores teores de bioativos avaliados, todas as colorações apresentaram teores de bioativos, assim

recomenda-se a utilização de qualquer coloração do ponto de vista estético e funcional.

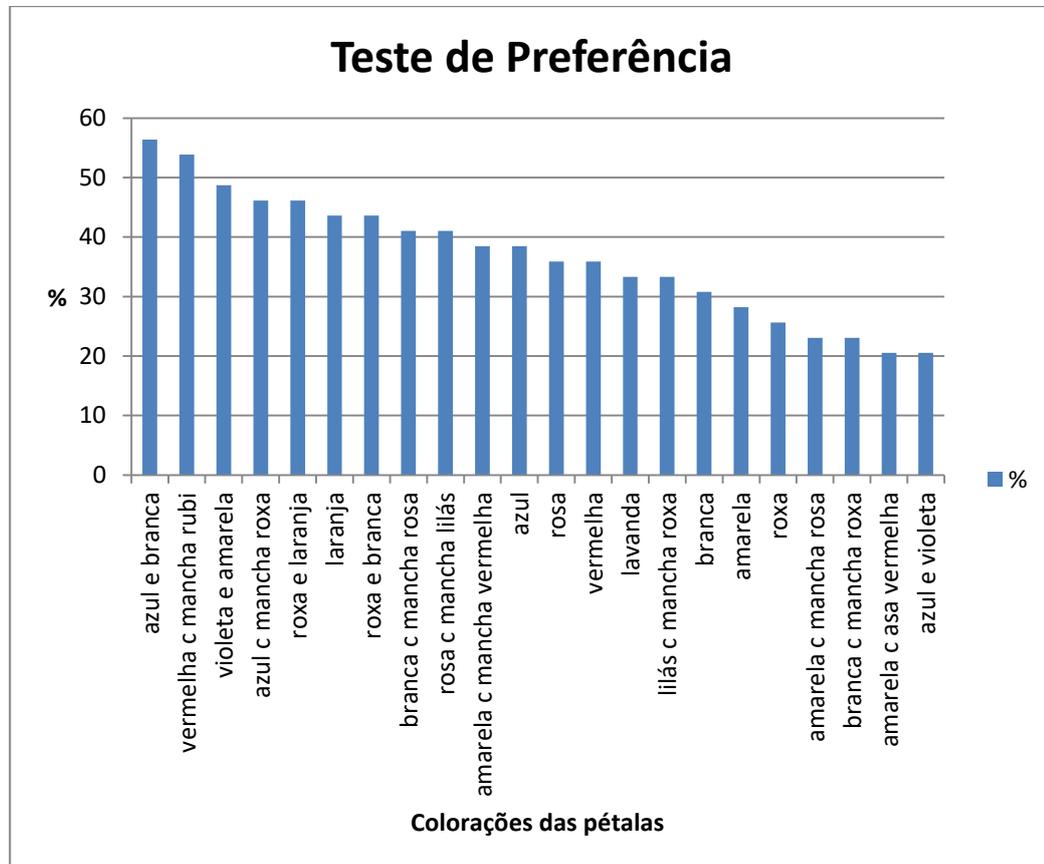


Figura 2 - Resultado do Teste de Preferência das flores de *Viola x wittrockiana*.

#### 4 Conclusão

As pétalas de *Viola x wittrockiana* apresentaram elevados teores de carboidratos e de proteínas. Assim, além de conferir cor aos pratos, essa flor pode ser utilizada como complemento protéico na alimentação. O valor de energia total foi de 376,67 Kcal por 100 g de pétalas seca. O total de ácidos graxos saturados foi superior ao total de ácidos graxos insaturados, onde o ácido palmítico foi o ácido graxo majoritário encontrado nestas flores, seguido pelo ácido linoleico.

A utilização de etanol, pelo tempo de imersão de um, três ou vinte quatro horas e a utilização de metanol pelo tempo de imersão de 3 horas, foram as

melhores condições de extração dos compostos fenólicos das pétalas de *Viola x wittrockiana*.

Os maiores teores de compostos fenólicos foram obtidos nas pétalas de colorações: “azul e violeta”, “azul com mancha roxa”, “amarela com asa vermelha” e “amarela com mancha rosa”. Os menores teores foram obtidos nas pétalas de colorações mais claras (“branca” e “lavanda”).

As pétalas de flores de amor – perfeito de colorações “roxa” e “rosa” apresentaram os maiores teores de antocianinas, e as pétalas de colorações “laranja”, “azul e violeta”, “amarela com mancha rosa”, “branca com mancha roxa”, “amarela”, “azul com mancha roxa” e “azul” apresentaram os maiores teores de flavonóides.

As pétalas de colorações que apresentaram maior preferência por parte dos consumidores foram “azul e branca” e “vermelha com mancha rubi”.

## 4 Capítulo 2 - Potencial Bioativo de Flores de *Viola x wittrockiana* de Diferentes Colorações

### 1 Introdução

Atualmente há um interesse crescente em consumir produtos alimentícios que sejam naturais e saudáveis. As plantas, além do seu valor nutricional, são consideradas alimentos que possuem benefícios para saúde quando incorporadas à dieta (GOSTIN e WAISUNDARA, 2019). Atribuí-se aos antioxidantes naturais de plantas os benefícios à saúde, pois protegem os componentes alimentares e auxiliam no sistema de defesa antioxidativo do organismo (Li et al., 2014).

As flores, desde a antiguidade, são consumidas por humanos em diferentes culturas, principalmente como produtos medicinais ou funcionais, por exercerem efeitos benéficos para a saúde humana (GONZÁLEZ-BARRIO et al., 2018). Nos últimos anos, as flores comestíveis ganharam mais atenção, devido à percepção que estas podem beneficiar a saúde (RODRIGUES et al., 2017). Flores comestíveis interferem na aparência, sabor e valor estético dos alimentos, aspectos que os consumidores apreciam, justificando a tendência crescente de vendas de flores frescas de qualidade em todo o mundo. No entanto, os consumidores também exigem alimentos com propriedades benéficas para a saúde, além dos nutrientes que contêm, procurando por qualidades funcionais como propriedades antioxidantes e antimicrobianas (FERNANDES et al., 2017). No estudo de Pires et al 2017, verificou-se que as flores comestíveis *Dahlia mignon*, *Rosa damascena* "Alexandria" e *R. gallica* "Francesa", *Calendula officinalis* L. e *Centaurea cyanus* L., podem ser utilizadas como fonte de compostos fenólicos, o que pode ser aplicado no setor de alimentício, como alimentos e como fonte de ingredientes naturais.

Amor-perfeito (*Viola x wittrockiana*), centaurea (*Centaurea cyanus*), borago (*Borago officinalis*), rosa (*Rose spp.*), capuchinha (*Tropaeolum majus*) e hibiscus (*Hibiscus rosa-sinensis*) são exemplos de flores comestíveis (FERNANDES et al., 2017). Amor-perfeito (*Viola x wittrockiana* Gams) é uma importante flor bienal do gênero *Viola* (*Violaceae*) que apresenta grandes pétalas e cores abundantes (YANG et al., 2018). Existem alguns estudos relativos ao valor nutricional e funcional destas

flores, porém nestes estudos são utilizadas misturas de flores com diversas colorações, como no trabalho de González-barrio et al. (2018).

As flores de amor-perfeito estão sendo utilizadas como alimento, no entanto, praticamente não há estudos referente à flores com diferentes colorações. Assim, o objetivo deste estudo foi determinar em flores de amor-perfeito de cinco colorações diferentes, os teores totais dos principais compostos bioativos, o perfil de açúcares, de compostos fenólicos e de antocianinas, além da capacidade antioxidante e antibacteriana.

## **2 Material e Métodos**

### **2.1 Cultivo e Preparo das Amostras de Flores de *Viola x wittrockiana***

Foram cultivadas flores da espécie *Viola x wittrockiana*, na floricultura da coordenadoria de agricultura do câmpus Pelotas – Visconde da Graça do Instituto Federal Sul-rio-grandense, de março a setembro de 2015. As sementes comerciais de *Viola x wittrockinana*, de diferentes cores (figura 1), foram semeadas em bandejas multicelulares de poliestireno expandido, compostas por 128 células de 12,0 x 5,0 cm, e preenchidas com substrato comercial próprio para semeadura de flores. Foi colocada uma semente em cada célula e foi realizada a irrigação diária por nebulização. Após o crescimento de dois pares de folhas verdadeiras, foi realizado o transplante para recipiente de cultivo de 1000 mL (vasos plásticos), os quais foram preenchidos com substrato comercial e colocados em estufa de produção até o ponto de coleta das flores. As plantas foram irrigadas e observadas diariamente, e assim que se observava a abertura da flor, era realizada a coleta. Depois de coletadas, as pétalas de mesma cor foram misturadas e liofilizadas (marca Liotop, modelo L101), nas condições de -55°C de temperatura e de 100 mmHg de pressão. Após o processo de liofilização, as amostras foram armazenadas a -80°C até a realização das análises.



Figura 1 - Cinco colorações de amor – perfeito (*Viola x wittrockiana*). Cultivo realizado na floricultura da coordenadoria de agricultura do câmpus Pelotas – Visconde da Graça do Instituto Federal Sul-rio-grandense, em 2015.

## 2.2 Determinações Químicas das Amostras

### 2.2.1 Total de Compostos fenólicos

O teor total de compostos fenólicos foi determinado por espectrofotometria, utilizando o método do reagente de Folin-Ciocalteu, segundo Singleton e Rosi (1965). O solvente utilizado para extração dos compostos fenólicos foi etanol e o tempo de extração foi de 24 horas, conforme Silva et al. (2020). Os resultados obtidos foram expressos em mg de ácido gálico equivalente por 100 gramas de amostra em base seca.

### 2.2.2 Total de Antocianinas e Flavonoides

Os teores de antocianinas e flavonoides foram determinados de acordo com método descrito por Francis (1982), com poucas modificações. Para isto, suspendeu-se 1g de flores em 10mL de solução de extração (1,5N HCl em etanol a 85%) em tubo Falcon de 50mL. Homogeneizou-se por 2 min em vortex e completou-se o volume para 50 mL com a solução extratora. Deixou-se no escuro e refrigerado durante 12 horas. Após, a suspensão foi filtrada em papel filtro whatman nº1, e 1000µL do filtrado foi colocado em um balão de 10mL. Realizou-se as leituras das absorbâncias em 535 nm e 374 nm, e fez-se o cálculo através da equação: Teor de antocianinas ou flavonoides (mg / 100g) = (ABS x fator de diluição x 1000) / (Peso amostra x Coeficiente absorção). Para determinar o teor de antocianinas utilizou-se

na equação a ABS de 535 nm e o coeficiente de absorção de  $982 \text{ (g/100mL)}^{-1} \cdot \text{cm}^{-1}$ . Para determinar o teor de flavonoides utilizou-se na equação a ABS de 374 nm e o coeficiente de absorção de  $766 \text{ (g/100mL)}^{-1} \cdot \text{cm}^{-1}$ . Os resultados obtidos foram expressos em mg por 100 gramas de amostra em base seca.

### **2.2.3 Total de Carotenoides**

A determinação de carotenoides foi realizada segundo AOAC, 2005 (método 970.64). O método baseia-se em extrair os carotenoides da amostra através de solventes apolares. A absorbância da fração apolar extraída é medida em espectrofotômetro, no comprimento de onda de 450 nm. Os resultados obtidos foram expressos em mg de  $\beta$ -caroteno por 100 gramas de amostra em base seca.

### **2.2.4 Ácido Ascórbico**

A extração e identificação do ácido L-ascórbico foi realizada de acordo com Ayhan et al. (2001). A análise de cromatografia líquida de alta eficiência consistiu no sistema HPLC-Shimadzu, utilizando o detector UV-visível a 254 nm. As fases móveis continham solução em ácido acético 0,1% e metanol, com um fluxo de  $0,8 \text{ mL} \cdot \text{min}^{-1}$ . A identificação do composto baseou-se na comparação do tempo de retenção para o padrão de ácido L-ascórbico e a quantificação foi baseada em uma curva de calibração externa de ácido ascórbico. Os resultados obtidos foram expressos em mg de ácido ascórbico por 100 gramas de amostra em base seca.

### **2.2.5 Tocoferóis Individuais**

A extração de tocoferóis foi realizada segundo a metodologia descrita por Rodriguez-Amaya (2001). Foram injetados  $10\mu\text{L}$  do extrato obtido no cromatógrafo líquido que consistiu no sistema HPLC-Shimadzu, equipado com detector de fluorescência, utilizando o comprimento de onda de 290nm para excitação e de 330nm para a emissão. A separação foi efetuada utilizando um sistema de eluição por gradiente, utilizando como fases móveis o metanol, acetonitrila e isopropanol,

seguindo a metodologia descrita por Zambiasi (1997). A identificação dos compostos foi com base na comparação do tempo de retenção com os padrões  $\alpha$ -,  $\delta$ - e  $\gamma$ -tocoferol e a quantificação baseou-se na curva de calibração externa destes padrões. Os resultados obtidos foram expressos em miligramas de tocoferol por 100 gramas de amostra em base seca.

### **2.2.6 Compostos fenólicos individuais**

Os compostos fenólicos foram extraídos usando o método descrito por Häkkinen et al. (1998). Foi retirada uma alíquota de 30 $\mu$ L do extrato obtido para injetar no cromatógrafo. O cromatógrafo consistiu no sistema HPLC-Shimadzu, com injetor automático, detector UV-visível a 280nm, coluna de fase reversa RP-18 CLC-ODS 74 (5 $\mu$ m, 4,6mm x 150mm) com fase estacionária octadecil, e uma coluna de guarda CLC-GODS com fase estacionária de superfície octadecil, ambas localizadas em forno a 25°C. A fase móvel consistiu no gradiente de eluição utilizando solução aquosa de ácido acético (99:1, v/v) e metanol, com fluxo de 0,8mL . min<sup>-1</sup>, com um tempo total de corrida de 45 minutos, segundo metodologia descrita por Zambiasi (1997). A identificação dos compostos foi com base na comparação do tempo de retenção com os padrões e a quantificação baseou-se na curva de calibração externa destes padrões. Os resultados obtidos foram expressos em mg por 100 gramas de amostra em base seca.

### **2.2.7 Antocianinas individuais**

Na extração de antocianinas foi utilizado o método de Zhang et al. (2004). Foi retirado uma alíquota de 25  $\mu$ L do extrato obtido para injetar no cromatógrafo. O cromatógrafo consistiu no sistema HPLC-Shimadzu, com injetor automático, detector UV-visível a 520nm, coluna de fase reversa RP-18 CLC-ODS 74 (5 $\mu$ m, 4,6mm x 150mm) com fase estacionária octadecil e uma coluna de guarda CLC-GODS com fase estacionária de superfície octadecil, ambas localizadas em forno a 25°C. A fase móvel consistiu no gradiente de eluição utilizando solução aquosa de ácido acético (98:2, v/v), metanol e acetonitrila, com fluxo de 0,8mL . min<sup>-1</sup>, com um tempo total de

corrida de 40 minutos, segundo metodologia descrita por Zhang et al. (2001). A identificação dos compostos foi com base na comparação do tempo de retenção com os padrões e a quantificação baseou-se na curva de calibração externa destes padrões. Os resultados obtidos foram expressos em miligramas por 100 gramas de amostra em base seca.

### **2.2.8 Perfil de Açúcares**

Os conteúdos dos açúcares frutose, glicose, sacarose, estaquiose e rafinose foram determinados segundo o método da AOAC 977.20 (2006), por cromatografia líquida de alta eficiência (HPLC) acoplada ao detector de índice de refração (RID). Foi injetado 40 µL de amostra no sistema de HPLC – Shimadzu, equipado com uma bomba quaternária, detector de índice de refração (RID) e coluna Luna NH<sub>2</sub> modelo 100<sup>a</sup> – de 250 mm x 4 mm, 5µm – Phenomenex – USA. Para a determinação dos açúcares, utilizou-se como fase móvel acetonitrila / água (70:30) a um fluxo de 0,8 mL por minuto e tempo de corrida de 20 minutos. A identificação dos compostos foi com base na comparação do tempo de retenção com os padrões e a quantificação baseou-se na curva de calibração externa dos padrões. Os resultados obtidos foram expressos em mg por 100 gramas de amostra em base seca.

## **2.3 Atividade antioxidante**

### **2.3.1 Por DPPH<sup>•</sup> (2,2-difenil-1-picril-hidrazila)**

A atividade antioxidante pelo método de captura do radical DPPH foi determinada segundo metodologia descrita por Brand-Willians et al. (1995). Os resultados foram expressos como porcentagem de inibição do radical DPPH. A porcentagem de inibição foi calculada pela equação: % De inibição = [(Absorbância do controle - Absorbância da amostra) / Absorbância do controle] \* 100.

### 2.3.2 Por ABTS<sup>•+</sup> (2,2'-azinobis(3-etilbenzotiazolina-6-ácido sulfônico))

A atividade antioxidante baseada na capacidade de captura do radical catiônico ABTS<sup>•+</sup> foi determinada de acordo com Re et al. (1999). Os resultados foram expressos como porcentagem de inibição do radical ABTS. A porcentagem de inibição foi calculada pela equação: % De inibição = [(Absorbância do controle - Absorbância da amostra) / Absorbância do controle] \* 100.

## 2.4 Atividade Antibacteriana

Foram avaliados os efeitos antimicrobianos de extrato de pétalas de *Viola x wittrockiana* sobre as cepas padrão das espécies de bactérias *Escherichia coli* (ATCC 43895) e *Staphylococcus aureus* (ATCC 10832) através da análise de disco difusão, realizada de acordo com protocolo proposto pelo Manual Clinical and Laboratory Standards Institute – CLSI (2015) com pequenas modificações. Foram preparadas soluções salinas contendo o inóculo de cada bactéria (padronizados na concentração de  $1,5 \times 10^8$  UFCmL<sup>-1</sup>) e foram semeadas com auxílio de um swab estéril na superfície de placas com ágar Muller-Hinton. Em seguida foram adicionados discos de papel filtro esterilizados com diâmetro de 6 mm. Após 10µL do extrato foi impregnado sobre os discos de papel e as placas incubadas por 24 h a 37 °C. Logo após este período foi efetuada a medição dos halos de inibição, sendo os resultados expressos em centímetros.

Outro método utilizado na avaliação da atividade antibacteriana foi a determinação de CIM (concentração inibitória mínima), de acordo com o método descrito por Cabral et al. (2009), com pequenas modificações. Foram utilizadas placas de microtitulação de 96 poços, onde se acrescentou em cada poço 100 µL de caldo BHI, 100 µL de inóculo (80 µL de caldo BHI e 20 µL de água salina com crescimento bacteriano) e o composto em cinco diferentes concentrações de composto (100 µL de composto puro); 1:5 (20 µL de composto e 80 µL de dimetilsulfóxido (DMSO)); 1:10 (10 µL de composto e 90 µL de DMSO); 1:100 (1 µL de composto e 99 µL de DMSO) e 1:1000 (0,1 µL de composto e 99,9 µL de DMSO). As microplacas foram contaminadas com inóculos das bactérias *Escherichia coli* (ATCC 43895) e *Staphylococcus aureus* (ATCC 10832), em concentrações de

$1,5 \times 10^8$  UFCmL<sup>-1</sup>. Os poços sem a contaminação do inóculo e poços com o inóculo e sem o extrato foram utilizados como controles. A inibição microbiana foi avaliada por leituras de densidade ótica em um comprimento de onda de 620 nm, utilizando espectrofotômetro, após 24 h de incubação. A CIM será considerada como a menor concentração em que não houve crescimento bacteriano no meio de cultura.

## **2.5 Análise Estatística**

Os resultados dos teores de compostos fenólicos, antocianinas e flavonoides foram realizados em triplicata e avaliados através da análise de variância ANOVA e pelo teste de Tuckey, ambos a 5% de significância. A correlação de Pearson foi conduzida para determinar a relação entre todos parâmetros, considerando o coeficiente de correlação (r).

## **3 Resultados e Discussão**

### **3.1 Total de Compostos Fenólicos, Antocioninas, Flavonoides, Carotenoides e de Ácido Ascórbico**

Na tabela 1 estão expostos os teores do total de compostos fenólicos, antocioninas, flavonoides, carotenoides e ácido ascórbico em flores de *Viola x wittrockiana* de cinco colorações. Verificou-se que conforme coloração das flores de *Viola x wittrockiana*, os conteúdos de bioativos foram diferentes.

Tabela 1 - Teor total de compostos fenólicos, antocianinas, flavonoides, carotenoides e ácido ascórbico em flores de *Viola x wittrockiana* de cinco colorações

Compostos	Coloração das flores				
	Laranja	Violeta e Amarela	Vermelha com mancha Rubi	Azul	Roxa e Branca
<b>TCF</b>	4695,57±616,56a	2799,82±13,18c	2889,37±203,05c	4329,47±118,25ab	3236,16±120,46bc
<b>TA</b>	20,63 ± 0,21e	1405,36±10,13c	2469,34±1,11a	1641,71±58,66b	1245,24±13,99d
<b>TF</b>	5552,24±109,18a	3308,92±17,94c	2271,01±38,72e	4370,14±151,80b	2702,61±46,37d
<b>TC</b>	4733,40 ± 20,03a	1140,63±123,64b	267,83±43,44c	163,03±11,09c	144,16±3,77c
<b>TAA</b>	268,80±0,14b	608,67±9,85a	174,06±24,32c	49,07±3,36d	631,23±31,26a

Valores médios. As médias seguidas por diferentes letras na mesma linha diferem estatisticamente entre si, ao nível de 5% de probabilidade.

TCF = total de compostos fenólicos;

TA = total de antocianinas;

TF = total de flavonoides;

TC = total de carotenoides;

TAA = total de ácido ascórbico;

Valores expressos em miligramas por 100 gramas de flores secas.

O conteúdo total de antocianinas foi superior nas flores de coloração “vermelha com mancha rubi” (2469,34 mg . 100g<sup>-1</sup> de amostra), o que também foi verificado por Silva et al. (2020), quando comparou o teor de antocianinas nas mesmas colorações do presente estudo . Nas flores de coloração “laranja” observou-se um teor muito inferior aos obtidos nas flores de outras colorações, com 20,63 mg . 100 g<sup>-1</sup> de amostra. Já se esperava que as flores que não possuem as colorações azul, roxo ou vermelho apresentassem valores inferiores destes compostos, pois como relatado por González-barrio et al. (2018), flores menos coloridas que possuem amarelo e branco apresentam pequena quantidade de antocianinas. No estudo de Lockowandt et al. (2019) é relatado que as antocianinas presentes em flores de tonalidade azul são fontes de corantes naturais, com possíveis aplicações em diferentes setores industriais, incluindo os setores alimentício, farmacêutico e de cosméticos. Corroborando com estes autores, Fernandes et al. (2017) relatam que as antocianinas contribuem fortemente para as cores vermelha e azul das flores. Todas as colorações das flores de *Viola x wittrockiana*, apresentaram teores de antocianinas significativamente diferentes. Assim, verifica-se a importância da coloração das flores no conteúdo de determinados compostos bioativos, o que pode ser explorado no enriquecimento de uma dieta.

Observou-se maior conteúdo de flavonoides nas flores de coloração “laranja”, o que também foi relatado por Silva et al. (2020), quando observou as mesmas

colorações do presente estudo. Esperava-se que a coloração “amarela e violeta” também obtivessem os maiores teores de flavonoides, pois segundo Acero et al. (2019), os flavonoides são compostos que fornecem uma cor amarela às plantas. Porém, observou-se que as flores com esta coloração apresentaram o segundo maior teor de carotenoides, que também é responsável pela coloração amarela de alguns vegetais. Os resultados obtidos neste estudo estão de acordo com os obtidos por Kaison et al. (2011), que avaliando o conteúdo de flavonoides de 12 flores comestíveis utilizadas na Tailândia, os teores variaram de 11,4 a 68 mg . g<sup>-1</sup> de peso seco, sendo os maiores teores obtidos em flores de coloração amarela.

O teor total de compostos fenólicos variou de 2799,82 a 4695,57 mg . 100 g<sup>-1</sup> de amostra, onde as flores de colorações “laranja” e “azul” foram as que apresentaram os maiores conteúdos. Verificou-se no presente estudo conteúdo de flavonoides superiores ao conteúdo de compostos fenólicos, o que também foi reportado por González-barrio et al. (2018) em flores de *Viola x wittrockiana*. A diferença dos teores destes compostos bioativos pode ser devido ao uso de flores com uma mistura de cores por González-barrio et al. (2018). Isso corrobora com a inferência das colorações das flores comestíveis no conteúdo e classe de compostos bioativos.

As flores do presente estudo apresentaram conteúdo de compostos fenólicos superiores aos teores de outros vegetais utilizados em saladas relatados por Tiveron et al. (2010). Estes autores relataram teores de compostos fenólicos de 1,2 a 16,9 mg. g<sup>-1</sup>, sendo que a cenoura apresentou a menor quantidade e a alface a maior. Os vegetais avaliados por estes autores foram: açafrão, agrião, brócolis, alcachofra, espinafre, aspargo, aipo, cebolinha verde, alho-poró, acelga, rabanete, almeirão, chicória, abóbora, nabo, salsa, beterraba, repolho verde, pepino, rúcula, alface crespa, cenoura e vagem.

As flores com coloração “laranja” apresentaram o maior teor de carotenoides, sendo que as colorações sem tons de amarelo apresentaram teores bem inferiores para o conteúdo deste bioativo (“vermelho com mancha rubi”, “azul” e “roxo e branco”). Os estudos que abrangem flores comestíveis geralmente enfocam como os principais bioativos, os compostos fenólicos, tendo poucos relatos sobre carotenoides nestas flores.

Para as flores de *Malva sylvestris* foram relatados teores de carotenoides inferiores aos teores do presente estudo, sendo de  $0,03 \text{ mg} \cdot \text{g}^{-1}$  (BARROS et al. (2010). As flores de coloração “violeta e amarela”, apresentaram um teor de carotenoides 4 vezes menor que as flores de coloração “laranja”. Isso provavelmente é justificado porque as flores de coloração “violeta e amarela” não apresentam somente tons de amarelo, mas também apresentam tonalidade de roxo.

O ácido ascórbico, comumente chamado de vitamina C, é uma cetolactona solúvel em água, que existe na maioria das hortaliças e frutas (CAO et al., 2019). O teor de ácido ascórbico presente nas flores de *Viola x wittrockiana* de diferentes colorações, variou de 49,07 a 631,23  $\text{mg} \cdot 100\text{g}^{-1}$  de amostra. Os maiores conteúdos deste composto foram encontrados nas flores de colorações “roxa e branca” e “violeta e amarelo”.

Rana (2016) relata o conteúdo de vitamina C de alguns vegetais, sendo de 11mg, 51 mg, 30 mg, 66 mg, 21 mg e 12 mg de vitamina C por 100 g de amostra para a alcachofra, espinafre, beterraba, alface, tomate e pepino, respectivamente. Estes valores são próximos ou inferiores aos teores de ácido ascórbico presentes nas flores de coloração “azul” avaliadas no presente estudo. As flores com esta coloração apresentaram os menores teores de ácido ascórbico por 100g de amostra. No entanto, pelo teor de vitamina C nas demais flores de amor-perfeito, é uma indicação que o uso destas flores em pratos, como saladas ou outros, contribuem com a ingestão de alto conteúdo de vitamina C, pois valores de ingestão diária recomendada de vitamina C é 45 mg, segundo ANVISA (2003).

### 3.2 Tocoferóis

Na tabela 2 estão expostos os teores de tocoferóis presentes nas flores de *Viola x wittrockiana* de cinco colorações.

Tabela 2 - Teores de tocoferóis presentes nas flores de *Viola x wittrockiana* de cinco colorações

Tocoferóis	Coloração das flores				
	Laranja	Violeta e Amarela	Vermelha com mancha Rubi	Azul	Roxo e Branca
<b>δ- tocoferol</b>	-	0,18±0,02b	0,32±0,05a	0,13±0,00b	0,08±0,01b
<b>γ- tocoferol</b>	2,72±0,01a	0,66±0,01c	1,66±0,02b	0,43±0,00d	0,37±0,03d
<b>α- tocoferol</b>	0,59±0,01b	22,33±1,17a	3,17±3,05b	6,28±0,02b	2,73±1,51b
<b>Total de tocoferóis</b>	3,31±0,33b	23,17±1,20a	5,15±3,08b	6,85±0,02b	3,18±1,55b

Valores médios. As médias seguidas por diferentes letras na mesma linha diferem estatisticamente entre si, ao nível de 5% de probabilidade.

Valores expressos em miligramas por 100 gramas de flores secas.

Tocoferóis fazem parte do grupo da vitamina E (LOPEZ-CERVANTES et al., 2018). O consumo de alimentos ricos com esta vitamina lipossolúvel (vitamina E) tem sido recomendado por profissionais de saúde, porque os tocoferóis são potentes antioxidantes naturais capazes de proteger as células dos efeitos dos radicais livres (LOCKOWANDT et al., 2019).

O  $\alpha$ - tocoferol foi o tocoferol majoritário presente nas flores, tendo nas flores de coloração “violeta e amarela” a maior concentração. A única exceção ocorreu com as flores de coloração “laranja”, onde o  $\gamma$ - tocoferol foi o tocoferol majoritário. Portanto, o teor e a proporção dos tocoferóis individuais foram dependentes da coloração das flores.

A flor comestível dente de leão (*Taraxacum* sect. *Ruderalia*), apresentou teores superiores do total de tocoferóis, 44,76 mg . 100 g<sup>-1</sup>, quando comparando com o teor nas flores do presente estudo; porém, apresentou um teor de  $\alpha$ -tocoferol, 21,60 mg . 100 g<sup>-1</sup>, semelhante ao da flor de coloração “violeta e amarela” (DIAS et al., 2014). No estudo de Lockowandt et al. (2019), são relatados conteúdos totais de tocoferóis inferiores ao do presente estudo, 1,30 mg . 100 g<sup>-1</sup> de flores secas de *Centaurea cyanus* L.

Os teores de tocoferóis relatados na literatura corroboram com a diferença dos teores de tocoferóis encontrados nas flores de *Viola x wittrockiana* de diferentes colorações, pois a flor *Taraxacum* sect. *Ruderalia* é de coloração amarela, e

apresenta os maiores teores de tocoferóis, e a flor *Centaurea cyanus* L. é de coloração azul e apresenta os menores teores de tocoferóis.

A ingestão diária recomendada de vitamina E é 10 mg, segundo ANVISA (2003), assim o consumo da flor de amor-perfeito pode contribuir com o conteúdo de tocoferóis recomendado.

### 3.3 Açúcares

Na tabela 3 são expostos os teores de frutose, glicose, sacarose, estaquiase e rafinose nas flores de diferentes colorações de *Viola x wittrockiana*.

Tabela 3 - Teores de açúcares nas flores de *Viola x wittrockiana* de diferentes colorações

Açúcares	Coloração das flores				
	Laranja	Violeta e Amarela	Vermelha com mancha Rubi	Azul	Roxo e Branca
<b>Frutose</b>	5,45±0,32b	4,83±0,01b	7,24±0,32a	6,79±0,34 <sup>a</sup>	7,49±0,21a
<b>Glicose</b>	13,44±1,35a	8,52±0,01b	11,81±0,47ab	13,07±1,12a	14,15±0,47a
<b>Sacarose</b>	0,71±0,20a	0,45±0,01ab	0,67±0,15a	0,11±0,01b	0,53±0,10ab
<b>Estaquiase</b>	1,43±0,29b	1,86±0,01ab	2,65±0,02a	1,03±0,14b	2,39±0,35a
<b>Rafinose</b>	0,86±0,06a	0,54±0,00a	1,09±0,08a	1,86±0,05a	1,15±0,09a

Valores médios. As médias seguidas por diferentes letras na mesma linha diferem estatisticamente entre si, ao nível de 5% de probabilidade.

Valores expressos em miligramas por 100 gramas de flores secas.

Não foi observado diferenças significativas no teor de rafinose nas flores de *Viola x wittrockiana* de diferentes colorações. Dias et al. (2014), não detectaram a rafinose nas flores de *Taraxacum sect. Ruderalia*.

Os teores de glicose foram maiores em relação aos teores dos outros açúcares, sendo este o açúcar mais abundante, seguido da frutose. Isso pode ocorrer devido às flores de *Viola x wittrockiana* florescerem no outono e inverno, pois segundo Trinh et al. (2018), as flores que florescem no inverno, como a camélia, exigem um alto acúmulo de frutose e glicose nos tecidos florais. A soma de glicose e frutose ficou em média 19% do total de açúcares das flores.

As flores de coloração “violeta e amarela” apresentou os menores teores de glicose e frutose. As de coloração “azul” apresentaram os menores teores de sacarose. As flores de colorações “vermelho com mancha rubi”, “roxo e branco” e “violeta e amarelo” apresentaram os maiores teores de estaquiose, sendo que o conteúdo de estaquiose nas flores de coloração “violeta e amarela” não diferiu das flores de colorações “azul” e “laranja”.

No estudo de Acero et al. (2019) foi comparado os teores de glicose e frutose de diferentes variedades de cereja doce (*Prunus avium* L.), no qual foi relatado teores semelhantes de frutose (3,18 a 6,89 mg . 100 g<sup>-1</sup>) e teores inferiores de glicose (2,61 a 6,89 mg . 100g<sup>-1</sup>) ao do presente estudo em flores de amor-perfeito. Trinh et al. (2018) relatam que os teores de açúcares obtidos em flores comestíveis sugerem que estas são recursos potenciais para a fabricação de bebidas e alimentos. No estudo destes autores, as flores de *Camellia japonica* apresentaram teores de glicose (14,88 mg . 100g<sup>-1</sup>) semelhante às flores de amor-perfeito de colorações “roxa e branca”, “laranja”, “azul” e “vermelha com mancha rubi”, avaliadas no presente estudo. Porém, estes autores relatam teores inferiores de glicose, quando avaliaram as flores *Rosa hybrida* e *Hibiscus sabdariffa* (5,68 e 3,15 mg . 100g<sup>-1</sup>), comparando com os teores encontrados nas flores avaliadas no presente estudo.

### 3.4 Compostos fenólicos e antocianinas individuais

Compostos fenólicos, incluindo as antocianinas, foram identificados nas flores das cinco colorações de *Viola x wittrockiana*, de acordo com o tempo de retenção das amostras comparando com o tempo de retenção dos padrões de referência. A quantificação foi realizada pela colocação da área do pico nas curvas dos correspondentes padrões, como apresentado na tabela 4.

As antocianinas identificadas nas flores de *Viola x wittrockiana* foram cianidina, delphinidina, peonidina e kumanina. A delphinidina foi a única antocianina detectada nas flores de coloração “laranja”, com teor de 0,29 mg . 100g<sup>-1</sup>, o que já era esperado, pelo teor total de antocianinas obtido nessa coloração (tabela 1). Esta antocianina também foi detectada nas flores de outras colorações, mas o maior teor foi nas flores de coloração “vermelho com mancha rubi” (64,87 mg . 100 g<sup>-1</sup>). Nas

flores de colorações “violeta e amarela”, “vermelha com mancha rubi”, “azul” e “roxa e branca” foram detectadas a cianidina, com teores muito semelhantes, e a peonidina com teores que variaram de 2,38 a 6,24 mg . 100g<sup>-1</sup>. As flores de coloração “vermelho com mancha rubi” apresentaram o maior número de antocianinas, sendo a única flor em que se detectou a kumanina. Relatos de Fernandes et al. (2017) corroboram com estes resultados, pois relatam que as antocianinas são os principais compostos que contribuem para coloração vermelha das flores.

Os compostos fenólicos identificados nas flores de *Viola x wittrockiana* foram rutina, miricetina, ácido ferrúlico, ácido elágico, quercitina, ácido hidroxidobenzóico, ácido caféico, epicatequina e ácido p-cumárico. A rutina foi detectada como o composto mais abundante em todas as flores, independente das colorações, com teores que variaram de 1130,72 a 9580,15 mg . 100g<sup>-1</sup>. As flores de coloração “laranja” foram as que apresentaram maior teor deste composto fenólico.

O ácido ferrúlico foi identificado em todas as flores de amor-perfeito avaliadas, com teores que variaram de 67,69 a 721,19 mg . 100g<sup>-1</sup>. Foi detectado a epicatequina nas flores de coloração “violeta e amarela”, “vermelha com mancha rubi” e “roxa e branca”, com alta concentração. A mericitina foi identificada nas flores de coloração “violeta e amarela”, “azul” e “roxa e branca”, em concentrações altas, principalmente na flor de coloração “azul” (2898,34 mg . 100g<sup>-1</sup>).

A flor de *Viola tricolor* apresentou teores de rutina de 33,70 e 143,57 mg . g<sup>-1</sup>, dependendo do solvente utilizado para sua extração, em estudo de Gonçalves et al. (2012). No presente estudo, o teor de rutina presente nas flores de *Viola x wittrockiana*, com exceção das flores de coloração “vermelha com mancha rubi”, foram superiores aos obtidos por Sá et al. (2018), os quais relatam teores de rutina de 2982 mg por kg de Goji berries (*Lycium barbarum* L.), ressaltando que esta é uma fruta que tem sido amplamente consumida devido à presença de compostos fenólicos e flavonoides, os quais tem efeitos benéficos na saúde. As flores de coloração “roxa e branca” apresentaram o maior número de compostos fenólicos identificados, em comparação com as flores de outras colorações.

Em uma revisão, Fernandes et al. (2017) relatam que a flor de *Viola x wittrockiana* conteria quercitina, delfinidina, petunidina, kamferol, luteolina, peonidina, malvidina e perlagonidina. Gonzalez-barrios et al. (2018), além da

quercetina e delphinidina, relata a presença de cianidina e violantina nas flores de *Viola x wittrockiana*. No presente estudo, além dos compostos relatados (cianidina e delphinidina), foram identificados a peonidina e a kumanina. Estas diferenças de compostos detectados na flor de *Viola x wittrockiana* podem ser em função da avaliação de flores de diferentes colorações, em que alguns estudos não são discriminados, ou pela utilização de uma mistura de cores.

Tabela 4 - Antocianinas e compostos fenólicos identificados em flores de *Viola x wittrockiana* de cinco colorações

Compostos	Coloração das flores				
	Laranja	Violeta e Amarela	Vermelha com mancha Rubi	Azul	Roxa e branca
<b>Antocianinas</b>					
Cianidina	-	13,46	12,61	13,13	13,40
Delfinidina	0,29	0,28	64,87	0,28	0,28
Peonidina	-	5,14	2,38	6,24	4,67
Kumanina	-	-	3,04	-	-
<b>Compostos Fenólicos</b>					
Rutina	9580,15	5775,63	1130,72	5682,78	4001,58
Miricetina	-	465,80	-	2898,34	914,13
Ácido Ferrúlico	67,69	193,42	93,95	721,19	222,14
Ácido Elágico	-	130,28	-	294,64	121,07
Quercitina	107,69	-	91,91	-	141,89
Ácido Hidroxidobenzóico	-	-	391,53	-	9,69
Ácido Caféico	-	25,46	-	-	93,15
Epicatequina	-	1264,58	988,63	-	1420,16
Ácido p_cumárico	-	209,15	-	-	-

(-) = não detectado;

Valores expressos em miligramas por 100 gramas de flores secas.

### 3.5 Atividade Antioxidante e Antibacteriana

Na tabela 5 estão expostos os dados da atividade antioxidante, através da porcentagem de inibição dos radicais DPPH e ABTS, e da atividade antimicrobiana frente as bactérias *Escherichia coli* e *Staphylococcus aureus*, de flores de *Viola x wittrockiana* de cinco colorações.

Tabela 5: Atividade antioxidante e antibacteriana de flores de *Viola x wittrockiana* de cinco colorações

Coloração das flores	Atividade Antioxidante (% inibição)		Atividade antibacteriana (diâmetro do halo em cm)	
	DPPH	ABTS	<i>E. coli</i>	<i>S. aureus</i>
Laranja	90,77 ab	45,03 a	1,0	-
Violeta e Amarela	91,57 a	41,77 a	-	-
Vermelha com mancha Rubi	90,21 b	55,17 a	0,9	-
Azul	91,33 ab	44,28 a	0,9	-
Roxa e Branca	90,96 ab	48,07 a	-	-

Valores médios. As médias seguidas por diferentes letras na mesma coluna diferem estatisticamente entre si, ao nível de 5% de probabilidade.  
(-) = ausência de halo de inibição.

A porcentagem de inibição do radical DPPH foi em torno de 90% para todas as flores de *Viola x wittrockiana*, independente da coloração. Essa porcentagem foi superior a obtida por Lopez-cervantes et al. (2018), os quais relataram a porcentagem média de inibição de 30,71% para as flores secas de *Aloe vera*. No estudo de Kaisoon et al. (2011), os quais verificaram a capacidade antioxidante de 12 flores, obtiveram uma variação de inibição de DPPH de 31,39 a 97,64 %. A porcentagem de inibição do radical DPPH obtida no presente estudo é próxima a porcentagem obtida no estudo de González-barrio et al. (2018) ao avaliarem flores de amor-perfeito, os quais obtiveram 100% de inibição. Pelos dados do presente estudo, e dos relatos em literatura, demonstram que as flores de amor-perfeito, mesmo apresentando diferentes teores de compostos bioativos de acordo com sua coloração, apresentam alta atividade antioxidante em relação a captura do radical DPPH.

Os antioxidantes podem ter mais de um mecanismo de ação, por isso é importante realizar diferentes avaliações da capacidade antioxidante (LI et al., 2014). Quando avaliado a porcentagem de inibição do radical ABTS, não houve diferença

entre as flores de amor-perfeito com diferentes colorações. No estudo de Ge e Ma (2013), onde foi avaliada a inibição dos radicais DPPH e ABTS da flor comestível *Anning*, foi obtido os mesmos percentuais de inibição (87,5%) para os dois radicais avaliados. O mesmo não ocorreu no presente estudo, pois a porcentagem de inibição do radical ABTS, na faixa de 41,77 a 48,07%, foi bem inferior a porcentagem obtida para o radical DPPH, na faixa entre 90,01 a 91,57%.

No entanto, todas as flores, independente das colorações, apresentaram inibições similares em relação aos dois radicais avaliados. Isto demonstra que os teores de compostos bioativos identificados no presente estudo em flores de *Viola x wittrockiana*, independente do composto bioativo majoritário em determinada coloração, apresentaram atividades antioxidantes similares na captura dos radicais DPPH e ABTS.

A presença e tamanho de halo de inibição indicam a suscetibilidade de proliferação das bactérias *S. aureus* e *E.coli*. Ao utilizar as flores de *Viola x wittrockiana*, foi observado halos de inibição contra *E. coli*, quando avaliadas as flores de colorações “laranja”, “vermelha com mancha rubi” e “azul”. No estudo de Abudunia et al. (2017), as flores de *Calendula arvensis* também apresentaram efeito inibitório contra as bactérias da espécie de *E. coli*. As flores de outras colorações não apresentaram halo de inibição, o que indica que o efeito inibitório contra microrganismos foi distinto em função da coloração da flor de *Viola x wittrockiana*.

Nenhum halo de inibição foi observado contra *S. aureus*, quando avaliadas as colorações das flores. Como a constituição das membranas celulares das bactérias Gram-positivas e Gram-negativas são diferentes, é esperado efeito inibitório contra um ou outro tipo de bactéria, sendo a *E. coli* uma bactéria Gram-negativa e *S.aureus* uma bactéria Gram-positiva. Segundo Miranda et al. (2015), estudos com extratos de plantas apresentaram melhores resultados contra bactérias Gram-positivas, devido a estrutura celular diferenciada das bactérias Gram-negativas, pois estas possuem uma parede celular composta de peptidoglicano, e uma membrana externa contendo lipossacarídeos, o que lhes confere maior proteção. Assim, o resultado do presente estudo demonstra uma atividade antibacteriana eficiente para as bactérias mais resistentes a agentes antimicrobianos.

Não foi observada uma concentração inibitória mínima em flores de amor-perfeito frente a *E. coli* e *S. aureus*, pois houve crescimento bacteriano em todas as

concentrações de flores utilizadas no estudo. Portanto, são necessários novos estudos com diferentes microrganismos, outras bactérias e fungos, com o intuito de corroborar e assegurar os resultados apresentados, para definir o potencial antimicrobiano dessas flores.

Na tabela 6 estão expostas as correlações entre os teores de compostos bioativos e atividade antioxidante e antibacteriana obtidos nas flores de *Viola x wittrockiana*.

Tabela 6 - Correlação entre os teores de compostos bioativos e atividade antioxidante e antibacteriana obtidos nas flores de *Viola x wittrockiana*

Potencial	TAA <sup>a</sup>	TCF <sup>b</sup>	TA <sup>c</sup>	TC <sup>d</sup>	TF <sup>e</sup>	TT <sup>f</sup>
<b>Bioativo</b>						
<b>DPPH<sup>g</sup></b>	r = 0,35	r = 0,06	r = -0,24	r = -0,10	r = 0,26	r = 0,67
<b>ABTS<sup>h</sup></b>	r = -0,28	r = -0,34	r = 0,58	r = -0,31	r = -0,59	r = -0,55
<b><i>E.coli</i><sup>i</sup></b>	r = 0,82	r = 0,66	r = -0,94	r = 0,99	r = 0,78	r = -0,88

<sup>a</sup>Teores de ácido ascórbico;

<sup>b</sup>Teores de compostos fenólicos;

<sup>c</sup>Teores de antocianinas;

<sup>d</sup>Teores de carotenoides;

<sup>e</sup>Teores de flavonoides;

<sup>f</sup>Teores totais de tocoferóis;

<sup>g</sup>Atividade antioxidante em relação ao radical DPPH;

<sup>h</sup>Atividade antioxidante em relação ao radical ABTS;

<sup>i</sup>Atividade antibacteriana frente a *E. coli*.

A capacidade antioxidante de captura do radical DPPH foi correlacionada positivamente com os teores de ácido ascórbico, compostos fenólicos, flavonoides e tocoferóis, obtendo-se a maior correlação com os teores de tocoferóis e uma correlação quase insignificante com os teores de compostos fenólicos. Gonzalez-barrios et al. (2018) relatam que outros compostos diferentes dos fenólicos podem apresentar atividade antioxidante.

Na avaliação da captura do radical ABTS observa-se correlação positiva somente com os teores de antocianinas. Segundo Zambiasi e Otero (2019), o método para determinação da atividade antioxidante interfere no resultado da correlação com componentes específicos, uma vez que a escolha do método nem sempre é o mais indicado para um determinado alimento.

O efeito inibitório de *E. coli* apresentou correlação positiva com os teores de ácido ascórbico, compostos fenólicos, carotenoides e flavonoides, sendo que apresentou coeficiente de correlação próximo a 1 com os teores de carotenoides.

#### 4 Conclusão

O conteúdo de compostos bioativos nas flores de *Viola x wittrockiana* foi dependente da coloração das flores. As flores de coloração “laranja” apresentaram os maiores teores de carotenoides, flavonoides e compostos fenólicos, não diferindo estatisticamente das flores de coloração “azul” para compostos fenólicos. O maior teor de antocioninas foram observados nas flores de coloração “vermelha com mancha rubi”. Os maiores teores de ácido ascórbico foram observados nas flores de colorações “roxa e branca” e “violeta e amarela”, sendo nesta última também observados os maiores teores de tocoferóis.

O açúcar majoritário das flores de amor-perfeito é a glicose, seguido da frutose.

Na flor de coloração “vermelho com mancha rubi” foi identificado a maior variedade de antocianinas. O composto fenólico majoritário em todas as flores de amor-perfeito foi a rutina.

As flores de *Viola x wittrockiana* apresentaram maior atividade antioxidante na inibição do radical DPPH, de cerca de 90%, do que na inibição do radical ABTS.

As flores de colorações “laranja”, “vermelha com mancha rubi” e “azul” apresentaram efeito inibitório contra *E. coli*.

## 5 Consideração Final

Pelos resultados fica demonstrado que a flor comestível de *Viola x wittrockiana* apresenta alto potencial bioativo, podendo enriquecer uma dieta e inferir em benefícios à saúde do consumidor, além de seu potencial uso na indústria de alimentos.

Observou-se neste estudo, que mesmo utilizando as mesmas condições de cultivo no ano de 2014 e 2015, as flores apresentaram conteúdo total de compostos diferentes, o que pode ter ocorrido devido as condições ambientais entre um ano e outro. No cultivo de 2015, o clima se apresentou bem mais quente que o normal, o que pode ter levado a planta de *Viola x wittrockiana* ter produzido compostos do metabolismo secundário, os quais são responsáveis pela defesa da planta. Estes metabólitos produzidos são os compostos bioativos.

Como destaque deste trabalho tem-se a coloração das flores. Verificou-se que conforme a coloração obtém-se diferentes conteúdos de determinados compostos. Como não foi possível neste trabalho realizar a identificação de todos os possíveis compostos presentes, sugere-se nos próximos estudos aprofundar neste quesito, como a identificação dos principais carotenoides e perfil de proteínas.

Outro destaque é quando comparamos os resultados deste trabalho com frutas e hortaliças de uso comum na alimentação. As flores de amor-perfeito apresentaram teores similares ou superiores aos de outros vegetais, mostrando que esta flor pode ser incorporada a dieta como o mesmo apelo nutricional e funcional de frutas e hortaliças.

Quanto à avaliação das atividades antioxidante e antimicrobiana é sugerido mais estudos, como avaliar a capacidade antioxidante com outros métodos e utilizar outras bactérias e fungos patógenos, para verificar a atividade antimicrobiana. Destacando o resultado obtido frente a bactéria Gram (-), pois muitos patógenos responsáveis pela intoxicação alimentar, como *Salmonella* sp., são bactérias Gram (-), o que demonstra que as flores de amor-perfeito possuem potencial para serem utilizadas na indústria de alimentos.

## Referências

- ABUDUNIA, A. M.; MARMOUZI, I.; FAOUZI, M. E. A.; RAMLI, Y.; TAOUFIK, J.; MADANI, N. E.; ESSASSI, E. M.; SALAMA, A.; KHEDID, K.; ANSAR, M.; IBRAHIMI, A. Anticandidal, antibacterial, cytotoxic and antioxidant activities of *Calendula arvensis* flowers. **Journal de Mycologie Médicale**, v. 27, p. 90—97, 2017.
- ACERO, N.; GRADILLAS, A.; BELTRAN, M.; GARCIA, A.; MINGARRO, D. M. Comparison of phenolic compounds profile and antioxidant properties of different sweet cherry (*Prunus avium* L.) varieties. **Food chemistry**, v. 279, p. 260-271, 2019.
- ALSHAMI, I.; ALHARDI, A. E. Antimicrobial activity of *Hibiscus sabdariffa* extract against uropathogenic strains isolated from recurrent urinary tract infections. **Asian Pac J Trop Dis**, v. 4, n. 4, p. 317-322, 2014.
- AMMAR, I.; BARDAA, S.; MZID, M.; SAHNOUN, Z.; REBAII, T.; ATTIA, H.; ENNOURI, M. Antioxidant, antibacterial and in vivo dermal wound healing effects of *Opuntia* flower extracts. **International Journal of Biological Macromolecules**, v. 81, p.483–490, 2015.
- AMMAR, I.; ENNOURI, M.; BALI, O.; ATTIA, H. Characterization of two prickly pear species flowers growing in Tunisia at four flowering stages. **LWT - Food Science and Technology**, v. 59, p. 448 – 454, 2014.
- AMMAR, I.; ENNOURI, M.; BALI, O.; ATTIA, H. Phenolic content and antioxidant activity of cactus (*Opuntia ficus-indica* L.) flowers are modified according to the extraction method. **Industrial Crops and Products**, v. 64, p. 97–104, 2015.
- AMRI, Z.; ZAOUAY, F.; LAZREG-AREF, H.; SOLTANA, H.; MNERRI, A.; MARS, M.; HAMMAMI, M. Phytochemical content, Fatty acids composition and antioxidant potential of different pomegranate parts: Comparison between edible and non edible varieties grown in Tunisia. **International Journal of Biological Macromolecules**, v. 104, p. 274–280, 2017.
- ANVISA – Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Resolução - RDC N° 360, de 23 de dezembro de 2003. Brasil.
- AOAC - Association of Official Analytical Chemists. **Official methods of analysis of the Association of the Analytical Chemists**, 17<sup>th</sup> ed. 2000.
- AOAC - Association of Official Analytical Chemist. **Official methods of analysis of the AOAC**, 18<sup>th</sup> ed. 2006.
- AOAC - Association of Official Analytical Chemists. **Official Methods of Analysis of AOAC International**, 18<sup>th</sup> ed. 2005.
- AYHAN, Z.; YEOM, H. W.; ZHANG, Q. H.; & MIN, D. B. Flavor, color, and vitamin C retention of pulsed electric field processed orange juice in different packaging materials. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 49, p. 669–674, 2001.

- BARROS, L.; CARVALHO, A. M.; FERREIRA, I. C. F. R. Leaves, flowers, immature fruits and leafy flowered stems of *Malva sylvestris*: A comparative study of the nutraceutical potential and composition. **Food and chemical toxicology**, v. 48, p. 1466-1472, 2010.
- BENVENUTI, S.; BORTOLOTTI, E.; MAGGINI, R. Antioxidant power, anthocyanin content and organoleptic performance of edible flowers. **Scientia Horticulturae**, v. 199, p. 170–177, 2016.
- BRAND-WILLIAMS, W.; CUVELIER, M. E.; BERSET, C. Use of a free radical method to evaluate antioxidant activity. **Food Science and Technology**, v.28, p.25-30, 1995.
- CABRAL, I. S. R., PRADO, A., BEZERRA, R.M.N., ALENCAR, S.M., IKEGAKI, M., ROSALEN, P.L. Composição fenólica, atividade antibacteriana e antioxidante da própolis vermelha brasileira. **Química Nova**, v.32, p.1523-1527, 2009.
- CAO, M.; HOU, Y.; ZHANG, E.; TU, S.; XIONG, S. Ascorbic acid induced activation of persulfate for pentachlorophenol degradation. **Quiosfera**, In press, disponível em abril de 2019.
- CARAZO, N.; LOPEZ, M. Actividad antioxidante de los pétalos de flores comestibles. IN: VI Congreso Ibérico de Ciencias Hortícolas y XII Congreso Nacional de ciencias hortícolas. **Acta de Horticultura del VI Congreso Ibérico de Ciencias Hortícolas y XII Congreso Nacional de ciencias hortícolas**. Logroño: 2009, p. 1115-1119.
- CARDOSO, P. C.; TOMAZINI, A. P.; STRINGHETA, P. C.; RIBEIRO, S. M. R.; PINHEIRO-SANT'ANA, H. M. Vitamin C and carotenoids in organic and conventional fruits grown in Brazil. **Food Chemistry**, v.126, p.411-416, 2011.
- CHEN, N.; WEI, S. Factors influencing consumers' attitudes towards the consumption of edible flowers. **Food Quality and Preference**, v. 56, p. 93-100, 2017.
- CLSI – Manual Clinical and Laboratory Standards Institute (2015) Padronização dos Testes de Sensibilidade a Antimicrobianos por Disco difusão: Norma Aprovada, 23, 1. Disponível em: <[http://www.anvisa.gov.br/servicos/audite/manuais/clsi/clsi\\_OPASM2-A8.pdf](http://www.anvisa.gov.br/servicos/audite/manuais/clsi/clsi_OPASM2-A8.pdf)>. Acesso em: <11 de abril de 2017>.
- COSTA, A. G. V.; GARCIA-DIAZ, D. F.; JIMENEZ, P.; SILVA, P. Bioactive compounds and health benefits of exotic tropical red–black berries. **Journal of Functional Foods**, v.5, p.539-549, 2013.
- DIAS, M. I.; BARROS, L.; ALVES, R.C.; OLIVEIRA, M. B. P. P.; SANTOS-BUELGA, C. FERREIRA, I. C. F. R. Nutritional composition, antioxidant activity and phenolic compounds of wild *Taraxacum* sect. *Ruderalia*. **Food Research International**, v. 56, p. 266–271, 2014.
- DORNI, C.; SHARMA, P.; SAIKIA, G.; LONGVAH, T. Fatty acid profile of edible oils and fats consumed in India. **Food Chemistry**, v.238, p.9-15, 2018.

EGEBJERG, M. M.; OLESEN, P. T.; ERIKSEN, F. D.; RAVN-HAREN, G.; BREDSORFF, L.; PILEGAARD, K. Are wild and cultivated flowers served in restaurants or sold by local producers in Denmark safe for the consumer? **Food and Chemical Toxicology**, v. 120, p. 129 – 142, 2018.

FELIPPE, G. M.; **Entre o jardim e a horta: as flores que vão para a mesa**. 2<sup>o</sup> ed. São Paulo: Editora Senac São Paulo, 2004.

FERNANDES, L.; CASAL, S.; PEREIRA, J.; SARAIVA, J.; RAMALHOSA, E. Edible flowers: A review of the nutritional, antioxidant, antimicrobial properties and effects on human health. **Journal of Food Composition and Analysis**, disponível em março de 2017.

Formulário teste de preferência de diferentes colorações de amor-perfeito. Disponível em: <<http://goo.gl/forms/aBXAwZGfgw>>. Acesso em 16 junho de 2016.

FRANCIS, F. J. Analysis of anthocyanins. In: P. Markakis (Ed.). **Anthocyanins as food colors**. New York: Academic Press, 1982. p. 181–207.

FRIEDMAN, H.; AGAMI, O.; VINOKUR, Y.; DROBY, S.; COHEN, L.; REFAELI, G.; RESNICK, N.; UMIEL, N. Characterization of yield, sensitivity to *Botrytis cinerea* and antioxidant content of several rose species suitable for edible flowers. **Scientia Horticulturae**, v.123, p.395-401, 2010.

FRIEDMAN, H.; VINOKUR, Y.; ROT, I.; RODOV, V.; GOLDMAN, G.; RESNICK, N.; HAGILADI, A.; UMIEL, N. *Tropaeolum majus* L. As edible flowers: growth and postharvest handling. **HortScience**, v.19, n.1, p.3-8, 2005.

GARZÓN, G. A.; WROLSAD, R. E. Major anthocyanins and antioxidant activity of *Nasturtium* flowers (*Tropaeolum majus*). **Food Chemistry**, v.114, p.44-49, 2009.

GE, Q.; MA, X. Composition and antioxidant activity of anthocyanins isolated from Yunnan edible rose (*An ning*). **Food Science and Human Wellness**, v.2, p.68-74, 2013.

GONÇALVES, A. F. K.; FRIEDRICH, R. B.; BOLIGON, A. A.; PIANA, M.; BECK, R. C. R.; ATHAYDE, M. L. Anti-oxidant capacity, total phenolic contents and HPLC determination of rutin in *Viola tricolor* (L) flowers. **Free Radicals and Antioxidants**, v.2, p.32-37, 2012.

GONZÁLEZ-BARRIO, R.; PERIAGO, M.J.; LUNA-RECIO, C.; JAVIER, G.F.; NAVARRO-GONZÁLEZ, I. Chemical composition of the edible flowers, pansy (*Viola wittrockiana*) and snapdragon (*Antirrhinum majus*) as new sources of bioactive compounds., **Food Chemistry**, aceito em fevereiro de 2018.

GOSTN, A.; WAISUNDARA, V. Y. Edible Flowers as Functional Food: A Review on Artichoke (*Cynara cardunculus* L.). **Trends in Food Science & Technology**, aceito para publicação em 6 de fevereiro de 2019.

- HAKKINEN, S. H.; KARENLAMPI, S. O.; HEINONEN, I. M.; MYKKANEN, H. M.; TORRONEN, A. R. HPLC method for screening of flavonoids and phenolic acids in berries. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, v. 77, p. 543–551, 1998.
- JUDPRASONG, K.; CHAROENKIATKUL, S.; THIYAJAI, P.; SUKPRASANSAP, M. Nutrients and bioactive compounds of Thai indigenous fruits. **Food Chemistry**, v.140, p.507-512, 2013.
- KAISOON, O.; KONCZAK, I.; SIRIAMORNPUN, S. Potencial health enhancing properties of edible flowers from Tailand. **Food Research International**, v. 46, p. 563-571, 2012.
- KAISOON, O.; SIRIAMORNPUN, S.; WEERAPREEYAKUL, N.; MEESO, N. Phenolic compounds and antioxidant activities of edible flowers from Thailand. **Journal of Functional Foods**, v.3, p.88-99, 2011.
- KELLEY, K. M.; CAMERON, A. C.; BIERNBAUM, J. A.; POFF, L. Effect of storage temperature on the quality of edible flowers. **Postharvest Biology and Technology**, v.27, p.341-344, 2003.
- KINUPP, V. F.; LORENZI, H. **Plantas Alimentícias Não Convencionais (PANC) no Brasil: guia de identificação, aspectos nutricionais e receitas ilustradas**. São Paulo: Instituto Plantarum de Estudos da Flora, 2014. 768p.
- KÖNIG, L.M.; RENNER, B.. Colourful = healthy? Exploring meal colour variety and its relation to food consumption. **Food Quality and Preference**,v. 64, p. 66-71, 2018.
- LEE, J. H.; LEE, H.; CHOUNG, M. Anthocyanin compositions and biological activities from the red petals of Korean edible rose (*Rosa hybrida* cv. Noblered). **Food Chemistry**, v.129, p.272-278, 2011.
- LI, A.; LI, S.; LI, H.; XU, D.; XU, X.; CHEN, F. Total phenolic contents and antioxidant capacities of 51 edible and wild flowers. **Journal of Functional Foods**, v. 6, p. 319-330, 2014.
- LIN, L.; HARNLY, J. M. Identification of the phenolic components of chrysanthemum flower (*Chrysanthemum morifolium* Ramat). **Food Chemistry**, v.120, p.319-326, 2010.
- LIU, S.; LIN, J.; WANG, C.; CHEN, H.; YANG, D. Antioxidant properties of various solvent extracts from lychhe (*Litchi chinensis* Sonn.) flowers. **Food chemistry**, v. 114, p. 577-581, 2009.
- LOCKOWNDT, L.; PINELA, J.; RORIZ, C. L.; PEREIRA, C.; ABREU, R. M. V.; CALHELHA, R. C.; ALVES, M. J.; BARROS, L.; BREDOL, M.; FERREIRA, I. C. F. R. Chemical features and bioactivities of cornflower (*Centaurea cyanus* L.) capitula: The blue flowers and the unexplored non-edible part. **Industrial Crops & Products**, v. 128, p. 496–503, 2019.

LÓPEZ-CERVANTES, J.; SÁNCHEZ-MACHADO, D. I.; CRUZ-FLORES, P.; MARISCAL-DOMÍNGUEZ, M. F.; MORA-LÓPEZ, G. S.; CAMPAS-BAYPOLI, O. N. Antioxidant capacity, proximate composition, and lipid constituents of Aloe vera flowers. **Journal of Applied Research on Medicinal and Aromatic Plants**, aceito em 12 February 2018.

LORENZI, H.; SOUZA, H. M. **Plantas ornamentais no Brasil**: arbustivas, herbáceas e trepadeiras. 3 ed. Nova Odessa, SP: Instituto Plantarum, 2001. 1088p.

MARTIN, C. A.; ALMEIDA, V. V.; RUIZ, M. R.; VIAENTAINER, J. E. L.; MATSHUSHITA, M.; SOUZA, N. E.; VISENTAINER, J. V. Ácidos graxos poliinsaturados ômega-3 e ômega-6: importância e ocorrência em alimentos. **Revista de Nutrição**, v. 19, n. 6, p. 761-770, 2006.

MILLERA, L. B.; SERRA, J. B.; FLORES, J. D.; PABLOS, M. P. A. Actividad Antioxidante de Pétalas de Flores Comestibles. **Magazine Horticultura** (2010). Espanha. Disponível em: <<http://www.interempresas.net/horticola/articulos>> Acesso em 02/10/2013.

MIRANDA, J.A.L.; ROCHA, J.A.; ARAÚJO, K.M.; QUELEMES, P.V.; MAYO, S.J., ANDRADE, I.M. Atividade antibacteriana de extratos de folhas de *Montrichardia linifera* (Arruda) Schott (Araceae). **Rev. Bras. Pl. Med.**, Campinas, v.17, n.4, supl. III, p.1142-1149, 2015.

MLCEK, J.; ROP, O. Fresh edible flowers of ornamental plants – A new source of nutraceutical foods. **Food science & Technology**, v.22, p.561-569, 2011.

NILE, S. H.; PARK, S. W. Edible berries: Review on bioactive components and their effect on human health. **Nutrition**, v.xxx, p.1-11, 2013. Article in press.

OHMIYA, A. Qualitative and quantitative control of carotenoid accumulation in flower petals. **Scientia Horticulturae**, v.xxx, p. xxx-xxx, 2013. Article in press.

ORR, D. Cultivo e comercialização de flores comestíveis. **Revista da associação brasileira de horticultura**, v.29, n.3, 2011.

PIRES, T. C..S..P.; DIAS, M. I.; BARROS, L.; CALHELHA, R. C.; ALVES, M. J.; OLIVEIRA, M. B. P. P.; SANTOS-BUELGA, C.; FERREIRA, I. C. F. .R. Edible flowers as sources of phenolic compounds with bioactive potential. **Food Research International**, aceito em novembro de 2017.

PIRES, T. C. P.; DIAS, M. I.; BARROS, L.; FERREIRA, I. C. F. R. Nutritional and chemical characterization of edible petals and corresponding infusions: Valorization as new food ingredients. **Food Chemistry**, v. 220, p. 337–343, 2017.

RANA, M.K., Salad Crops: Dietary Importance. **Encyclopedia of Food and Health**, p. 665-672, 2016.

RE, R.; PELLEGRINI, N.; PROTEGGENTE, A.; PANNALA, A.; YANG, M.; RICE-EVANS, C. Antioxidant activity applying an improved ABTS radical cation decolorization assay. **Free Radicals in Biology and Medicine**, v.26, p.1231–1237, 1999.

RODRIGUES-AMAYA, D. B. (2001). **A guide to carotenoid analysis in foods**. Washington:ILST Press, USA. 64p.

RODRIGUES, H.; CIELO, D.P.; GOMÉZ-CORONA, C.; SILVEIRA, A. .A. S.; MARCHESAN, T. A.; GALMARINI, M. V.; RICHARDS, N. S. P. S. Eating flowers? Exploring attitudes and consumers' representation of edible flowers. **Food Research International**, aceito em agosto de 2018.

SÁ, R. R.; CALDAS, J. C.; SANTANA, D. A.; LOPES, M. V.; SANTOS, W. N. L.; KOM, M. G. A.; SANTOS JÚNIOR, A. F. Multielementar/centesimal composition and determination of bioactive phenolics in dried fruits and capsules containing Goji berries (*Lycium barbarum* L.). **Food chemistry**, aceito em maio de 2018.

SHI, J.; GONG, J.; LIU, J.; WU, X.; ZHANG, Y. Antioxidant capacity of extract from edible flowers of *Prunus mume* in China and its active components. **LWT – Food Science and Technology**, v.42, p.477-482, 2009.

SILVA, L. A.; FISCHER, S. Z.; ZAMBIAZI, R.C. Proximal composition, bioactive compounds content and color preference of *Viola x wittrockiana* flowers. **International Journal of Gastronomy and Food Science**, v.22, p. 1-7, 2020.

SINDI, H. A.; MARSHALL, L. J.; MORGAN, M. R. A. Comparative chemical and biochemical analysis of extracts of Hibiscus Sabdariffa. **Food Chemistry**, v. 164, p. 23–29, 2014.

SINGLETON, V.L.; ROSSI, J.A. Colorimetry of total phenolics with phosphomolybdic phosphotungstic acid reagents. **American J. of Enology and Viticulture, Davis**, v.16, n.3, p.144-158, 1965.

SIRIAMORNUN, S.; KAISOON, O.; MEESO, N. Changes in colour, antioxidant activities and carotenoids (lycopene, b-carotene, lutein) of marigold flower (*Tagetes erecta* L.) resulting from different drying processes. **Journal of Functional Foods**, v.4, p.757-766, 2012.

Tabela Brasileira de Composição de Alimentos (TBCA). Universidade de São Paulo (USP). Food Research Center (FoRC). Versão 6.0. São Paulo, 2017. [Acesso em: 25 de maio de 2019]. Disponível em: <http://www.fcf.usp.br/tbca/>

TAI, Z.; CAI, L.; DAI, L.; DONG, L.; WANG, M.; YANG, Y.; CAO, Q.; DING, Z. Antioxidant activity and chemical constituents of edible flower of *Sophora viciifolia*. **Food Chemistry**, v.126, p.1648-1654, 2011.

TIVERON, Ana Paula. **Atividade Antioxidante e Composição Fenólica de Legumes e Verduras Consumidos no Brasil**. 2010. 103f. Dissertação (Mestrado em ciência) – Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”, Universidade de São Paulo, Piracicaba, 2010.

TRINH, L. T.; CHOI, Y.; BAE, H. Production of phenolic compounds and biosugars from flower resources via several extraction processes. **Industrial Crops & Products**, v. 125, p. 261–268, 2018.

VILLAVICENCIO, A. L. C. H.; HELENO, S. A.; CALHELHA, R. C.; SANTOS-BUELGA, C.; BARROS, L.; FERREIRA, C. F. R. The influence of electron beam radiation in the nutritional value, chemical composition and bioactivities of edible flowers of *Bauhinia variegata* L. var. *candida alba* Buch.-Ham from Brazil. **Food Chemistry**, v.241, p. 163–170, 2018.

VUKICS, V.; KERY, A.; GUTTMAN, A. Analysis of Polar Antioxidants in Heartsease (*Viola tricolor* L.) and Garden Pansy (*Viola x wittrockiana* Gams.). **Journal of Chromatographic Science**, Vol. 46, October 2008

WANG, J.; BAO, M. Z. Plant regeneration of pansy (*Viola wittrockiana*) ‘Caidie’ via petiole – derived callus. **Scientia Horticulturae**, v.111, p. 266-270, 2007.

WONGWATTANASATHIEN, O.; KANGSADALAMPAI, K.; TONGYONK, L. Antimutagenicity of some flowers grown in Thailand. **Food and Chemical Toxicology**, v.48, p.1045-1051, 2010.

YANG, W.; LI, T. P. T.; CEN, J.; WANG. Tyramine and tyrosine decarboxylase gene contributes to the formation of cyanic blotches in the petals of pansy (*Viola x wittrockiana*). **Plant Physiology and Biochemistry**, aceito para publicação em 20 March 2018.

ZAMBIAZI, R. C. **Análise Físico Química de Alimentos**. Pelotas: Editora Universitária / UFPEL, 2010. 202p.

ZAMBIAZI, R. C. The oil of endogenous lipid components on vegetable oil stability. Tese de doutorado. 304p. Foods and nutritional science interdepartmental program. University of Manitoba, Winipeg, Manitoba-Canada, april, 1997.

ZAMBIAZI, R. C.; OTERO, D. **Antioxidantes em Alimentos: Antioxidantes e Atividades Antioxidantes**. Novas Edições Acadêmicas, 2019. 93p.

ZHANG, Z.; PANG, X.; YANG, C.; JI, Z.; JIANG, Y. Purification and structural analysis of anthocyanins from litchi pericarpo. **Food Chemistry**, v.84, p.601-604, 2004.

ZHANG, Z.; PANG, X.; JI, Z.; JIANG, Y. Roles of anthocyanin degradation in litchi pericarp browning. **Food Chemistry**, v.75, p.217-221 2001.