



Estudo espectrométrico de diferentes estágios fenológicos da *Brassica oleracea* var. *capitata*

Camilo Amaro de Carvalho,¹ Marcelo Barreto da Silva,*² Tancredo Gonçalves de Oliveira,² Jadson de Matos Lima,² Marcelo Barcellos da Rosa²

¹Departamento de Biologia Celular, Universidade Federal de Viçosa, 36570-000 Viçosa-MG, Brasil,

²Faculdade de Ciências Agrárias, Universidade Vale do Rio Doce, Rua Israel Pinheiro, 2000, Bairro Universitário, 35020-220 Governador Valadares-MG, Brasil

RESUMO: O repolho (*Brassica oleracea* var. *capitata*), planta do gênero *Brassica*, vem sendo utilizado na medicina popular brasileira principalmente no tratamento da cicatrização. Neste trabalho, foi desenvolvido um estudo espectrométrico na região do ultravioleta-visível aliado a uma prospecção fitoquímica para diferentes estágios fenológicos da *Brassica* sp. O perfil espectrométrico das concentrações globais relativas dos constituintes da planta, com relação ao seu crescimento vegetativo, foi traçado para extratos em água, etanol e diclorometano. A hidrólise dos extratos aquosos foi também avaliada. Os resultados da prospecção fitoquímica mostraram a presença positiva de compostos fenólicos, flavonóides, triterpenos e esteróides para os extratos etanólicos e aquosos nos estágios vegetativos IV e V. Analisando o perfil espectral e a redução da concentração global relativa para cada solvente e estágio fenológico, foram obtidas reduções (estágio IV até o VII) na ordem de 87%, 73% e 55%, respectivamente para extratos obtidos com água, etanol e diclorometano em relação ao estágio IV. As concentrações dos constituintes ativos são inversamente proporcionais ao estágio de crescimento vegetativo do repolho, servindo como uma ferramenta útil no controle de qualidade de fitoterápicos.

Unitermos: Brassicaceae, repolho, espectrometria UV-VIS, fitoquímica.

ABSTRACT: "Spectrometric study at different phenologic stages of the cabbage (*Brassica oleracea* var. *capitata*)". The cabbage (*Brassica oleracea* var. *capitata*), plant of the genus *Brassica*, has been used by the Brazilian folk medicine mainly in the treatment of healing. In this work, a spectrometric study at ultraviolet-visible range allied to a phytochemical screening on different phenologic stages of *Brassica* sp. was developed. Aiming at obtaining a spectrometric profile of the global concentrations of the constituents in relation to the vegetative growth, ethanol, aqueous and dichloromethane extracts were studied. Hydrolysis of aqueous extracts was also performed. The results of the phytochemical prospection show a positive presence of phenolic compounds, flavonoids, triterpenes, steroids for the ethanol and aqueous extracts at stages IV and V. Analyzing the spectral profile and the reduction of the relative global concentration for each solvent and phenologic stage, reductions were obtained (stage IV until stage VII) in the order of 87%, 73% and 55% for aqueous, ethanol and dichloromethane extracts, respectively and in relation to stage IV. Therefore, the constituents concentrations were inversely proportional to the vegetative growth and can be used as useful tool to determinate the quality control of the herbal medicines.

Keywords: Brassicaceae, cabbage, UV-VIS spectrometry, phytochemistry.

INTRODUÇÃO

O repolho (*Brassica oleracea* var. *capitata*) é uma planta da família das Brassicaceae (crucíferae), herbácea, folhosa, com grande aplicabilidade, não somente por apresentar um alto valor nutritivo, alta concentração de cálcio, proteínas e ácido ascórbico (Filgueira, 2000; Lédo et al., 2000), mas também pelo seu caráter social, pois se trata de uma planta cultivada essencialmente por pequenos agricultores (Silva Júnior, 1987; Silva Júnior et al., 1988; Filgueira, 2000).

Segundo Balbach e Boarim (1993), os romanos

já empregavam a *Brassica* sp., tanto interna, como externamente como abstergente (produto utilizado para limpar ferimentos) e na forma de cataplasmas no tratamento das feridas. Relatos informam ainda o uso da *Brassica* sp. a mais de um milênio em processos de cicatrização de abscessos, cefalalgias idiopáticas (dores de cabeça de causas desconhecidas), independentes de febre ou distúrbios intestinais, dores reumáticas e reumatóides, tumores, prevenção de tuberculose, auxílio em casos de afonia, desnutrição, anemia, enfermidades do estômago, úlceras internas, hemorróidas, alcoolismo, gota e reumatismo.

A busca e intensificação do uso de plantas *in natura* pela população para fins medicinais ocorre até mesmo em países industrializados (Miguel & Miguel, 2000). No Brasil, a *Brassica* sp. vem sendo utilizada como produto cicatrizante (Ferradeira et al., 2003), no combate a osteoporose (Agra et al., 2007), no tratamento de dependência ao álcool (Carlini et al., 2006) ressaltando o seu uso em casos de diabetes (Barbosa-Filho et al., 2005), visto que o quadro clínico de dificuldade de cicatrização decorrente da doença é comprovado. Vários estudos têm sido realizados, como de toxicidade e análise histológica (Antunes et al., 2003); microbiológicos (Sarandy et al., 2003); na estabilização da massa óssea após a menopausa (Pereira et al., 2006); bioensaios comparativos com outros produtos cicatrizantes (Freire et al., 2003), com a finalidade de comprovação científica dos efeitos fitoterápicos da *Brassica* sp.

Um ponto importante no estudo de princípios ativos de uma planta são os estágios fenológicos da cultura (Andaloro et al., 1983), o que facilita a transposição de informação sobre a cultura, tendo em vista que a duração do ciclo reprodutivo de cada vegetal é função também da interação com os componentes do ambiente como temperatura, água, luz, etc. O ciclo vegetativo da cultura do repolho pode ser dividido em fases fenológicas, assumindo valores distintos, como pode ser visto na Figura 1. Essas fases compreendem um período de crescimento ou período vegetativo da cultura, formação da colheita (aumento do tamanho) e maturação.

A busca da qualidade é um movimento que adquiriu dimensão mundial. Cada vez mais os produtores de bens e serviços percebem que a qualidade é o componente mais importante para oferecer produtos capazes de satisfazer as necessidades dos usuários. Da mesma forma, os usuários desses bens e serviços requerem cada vez mais o melhor desempenho dos produtos que adquirem.

O controle de qualidade de fitoterápicos é imprescindível no meio comercial, pois muitas espécies vegetais são vendidas sem quaisquer garantia de qualidade, favorecendo, desde a venda de espécies falsificadas, até o armazenamento inadequado durante a sua comercialização, como destaca a Revista Biotecnologia Ciência & Desenvolvimento - controle de qualidade de ervas medicinais, edição nº 31, Julho/Dezembro de 2003.

Diante desta realidade, se torna fundamental a sistematização de técnicas para uma melhor comprovação científica da real utilização dos fitoterápicos e validação dos processos tecnológicos de cultivo e produção.

Dentre os inúmeros solventes utilizados na farmacotécnica de fitoterápicos envolvendo a *Brassica* sp., o que possui um maior apelo popular é a água, pois proporciona a extração de moléculas polares como glucosinolatos, encontrados também no brócolis e nabo (Simões et al., 1999). Estes constituintes possuem a propriedade de promover a agregação plaquetária, que

é fundamental num processo de cicatrização (Simões et al., 1999). Quando coágulos de sangue se formam, em uma ferida, por exemplo, as plaquetas do sangue são incorporadas ao coágulo e acionadas para liberar o fator de crescimento derivado das plaquetas. Este então se liga ao receptor da enzima tirosinoquinase das células sobreviventes no local da ferida, estimulando-as a proliferação e conseqüentemente cicatrização da mesma (Alberts et al., 2006). Outras moléculas que podem estar correlacionadas à ação cicatrizante da *Brassica* sp. são os taninos (ácidos fenólicos) e flavonóides. Os ácidos fenólicos e flavonóides pertencem a uma classe de metabólitos secundários, largamente distribuídos em plantas. Estes possuem pelo menos um anel aromático com um ou mais grupamentos hidroxila, juntamente com outros substituintes (Havsteen, 2002). Os polifenóis de leguminosas e cereais são predominantemente taninos de origem flavonóide (Deshpande & Cheryan, 1985). Os flavonóides conferem uma ação anti-oxidante com potencial terapêutico (Jang et al., 1995; Barreiros et al., 2003; Carbonezi et al., 2007; Andrade et al., 2007). Estudos *in vitro* têm mostrado que a quercetina e outros flavonóides inibem fortemente, tanto a produção de óxido nítrico, como a necrose tumoral provocadas pelas células de *Kupffer* quando estimuladas pela injúria (Kawada et al., 1998). Portanto, esta pode ser uma possível via de atuação da *Brassica* sp. nos processos de cicatrização, através do sinergismo entre glucosinolatos e polifenóis.

O conhecimento da constituição química das plantas usadas na medicina popular envolve um sistema complexo e combinatório de diferentes ferramentas capazes de elucidar estruturalmente as inúmeras classes e/ou moléculas que podem vir a constituir uma única planta. A espectrometria na faixa do ultravioleta e visível (UV-VIS) é uma técnica consolidada e amplamente utilizada nos últimos 50 anos. A espectrometria UV-VIS permite análises qualitativas e quantitativas de misturas moleculares, pois possibilita a visualização dos perfis espectrais que indicam a presença dos constituintes de uma mistura.

Neste estudo, a espectrometria UV-VIS foi utilizada no monitoramento de algumas classes de compostos globais constituintes das folhas da *Brassica* sp., bem como na determinação do perfil de concentração global relativa vinculada a cada estágio do desenvolvimento vegetativo/fenológico da planta utilizando-se diferentes solventes a partir de uma prospecção fitoquímica. Cabe ressaltar que a identificação de constituintes ativos específicos não foi focalizada.

MATERIAL E MÉTODOS

Preparo das mudas

Mudas de repolho foram produzidas sob ambiente protegido, em bandejas de isopor de 128 células, preenchidas com substrato agrícola comercial

recomendado para a cultura e três sementes ISLA® - Coração de Boi - Lote 15787 - sem Defensivos por célula. O preparo dos vasos para o plantio ocorreu durante o mês de abril de 2006.

Preparo dos canteiros

O solo da área experimental, classificado como argiloso vermelho-amarelo, apresenta uma análise laboratorial/constitucional mostrada na Tabela 1.

Para o transplante das mudas foram preparados três canteiros, dispondo-se em cada 32 mudas, sendo um para a colheita aos 40 dias (correspondente ao estágio fenológico IV), o segundo aos 60 dias (correspondente ao para estágio fenológico V) e o terceiro aos 80 dias (correspondente ao para o estágio fenológico VII) (Tabela 2). A determinação das datas de coletas foi aleatória, mantendo-se o intervalo fixo de 20 dias. A referência ao estágio fenológico faz-se necessária caso o experimento seja realizado em outras condições. O espaçamento entre linhas utilizado nos canteiros foram 30 x 30 x 50 cm (Figura 2). O preparo do solo consistiu de uma aração e abertura dos sulcos de plantio com auxílio de enxada. Aos 28 dias após a semeadura, as mudas aprestavam de 4 a 5 folhas definitivas, o que correspondente ao estágio II (Andaloro et al., 1983), e foram transplantadas para o local definitivo. Todo o plantio foi realizado na área agrícola experimental do Curso de Agronomia da Universidade Vale do Rio Doce - Campus II, Governador Valadares.

Durante a condução do experimento, realizaram-se duas capinas manuais aos 18 e 31 dias após o transplante das mudas para o canteiro definitivo. Aos 30 dias após o transplante, foi pulverizado extrato aquoso de folhas de Nim (*Azadiraca indica*), para controle da traça do repolho (*Plutella xylostella*). As irrigações foram realizadas de acordo com a necessidade da cultura.

Reagente e soluções

Todos os reagentes utilizados foram de grau analítico (Merck): etanol, diclorometano, NaOH e HCl. A água utilizada no preparo das soluções e limpeza das vidrarias foi de origem de filtro de osmose reversa (Permutation®).

Preparo dos extratos

Foram feitas três coletas de material vegetal no campo, ao acaso e em intervalos regulares de 20 dias. O material foi coletado aos 40 dias (estágio IV), 60 dias (estágio V) e 80 dias (estágio VII), Figura 3. De cada canteiro foram colhidas aleatoriamente dez plantas. O material coletado foi lavado em água corrente, seco em estufa à 40°C e umidade relativa controlada e moído em moinho de facas (Marconi® - Modelo 340).

Uma amostra de 10 g de cada material seco e triturado foi adicionado a 100 mL de solvente. Os

solventes utilizados foram água, etanol e diclorometano. Em seguida, a suspensão foi submetida a 60 minutos de ultrasonicação (Unique® - MaxiClean 1400), a temperatura ambiente (28 °C). Aos extratos de etanol e diclorometano, foi adicionado 1,0 g de carvão ativo, com a finalidade de retirar a clorofila dos extratos, pois a mesma mascara os resultados colorimétricos da prospecção fitoquímica. Todos os extratos foram filtrados à vácuo e os filtrados resultantes analisados quimicamente. O estudo químico foi realizado no Laboratório de Pesquisa em Química da Universidade Vale do Rio Doce, Campus II, Governador Valadares.

Prospecção fitoquímica

Os extratos filtrados foram submetidos a testes fitoquímicos descrito por Simões et al., 1999, onde foi verificada a presença de açúcares redutores, compostos fenólicos, taninos, flavonóides, cumarinas, compostos antracênicos, heterosídeos cardiotônicos, saponinas, naftoquinonas, antraquinonas, triterpenos e esteróides. A prospecção fitoquímica foi realizada em triplicata. Os testes se baseiam em reações cromáticas e de precipitação (Simões et al., 1999).

Análises espectrométricas UV-VIS

O perfil espectrométrico das concentrações globais relativas dos constituintes da planta, com relação ao seu crescimento vegetativo nos estágios fenológicos IV (40 dias), V (60 dias) e VII (80 dias), foi traçado para extratos em água, etanol e diclorometano. Foram retiradas alíquotas de 1 mL de cada extrato e preparadas soluções a 0,1% (m/V - extrato seco/solvente) para as análises espectrométricas. Também, para efeito de comparação com os extratos etanólicos de cada estágio fenológico, foi realizada a extração dos fitoconstituintes da semente por trituração em grau de porcelana, sendo o extrato final de concentração 0,1% (m/V - triturado/solvente). Os espectros foram medidos com espectrômetro Femto 800 XI, com cubeta de quartzo de 1,0 cm de caminho óptico com varreduras de 200 a 700 nm, com intervalos de 2 nm.

Medidas de pH

Para os estudos de hidrólise do extrato aquoso, etanólico e em diclorometano de *Brassica* sp. em seus respectivos estágios fenológicos IV, V e VII, os diversos valores de pH foram obtidos através da adição de volumes conhecidos de NaOH 0,01 M ou HCl 0,01 M, tendo sido medidos potenciométricamente (pHmetro Quimis® - Q 400A), com eletrodo de vidro calibrado previamente com tampões pH 4,0, 7,0 e 10,0 (Merck). Como o perfil espectrométrico de todos os extratos testados apresentaram o mesmo perfil espectral, foi adotado apenas o espectro do extrato aquoso para as análises.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

A determinação da concentração global relativa dos constituintes fisiológicos em uma cultura específica depende de vários fatores que podem variar principalmente com a distribuição demográfica e sazonal da cultura (Rodrigues & Osuna, 2004; Yariwake et al., 2005; Santos et al., 2006; Monteiro et al., 2006; Gobbo-Neto & Lopes, 2007). Essas variações podem ocorrer em função de pequenas mudanças climáticas: incidência luminosa, recursos hídricos, etc.

Adotou-se a expressão *concentração global relativa* por dois motivos, ou seja, pelo fato de não se estar mensurando a contribuição isolada de cada molécula em cada extrato obtido e pelo fato de se estar vinculando um decréscimo relativo de concentração ao estágio fenológico IV, que é o ponto de partida, ou concentração relativa global considerada como inicial (100%), como mostra a Tabela 3.

Os espectros dos extratos aquosos e etanólicos de *Brassica* sp. (Figuras 4 e 5) apresentaram um decaimento da concentração global relativa dos constituintes, quando comparados os diferentes estágios fenológicos, evidenciado pela diminuição do coeficiente de extinção (absorvância) total para toda a faixa espectral

medida. Porém, as concentrações dos extratos aquosos demonstraram maior absorção, evidenciando ser o solvente mais adequado para a extração de constituintes, que absorvem na faixa espectral de 225 a 420 nm. Para o extrato etanólico, apesar de apresentar baixa absorção, este extrai constituintes que absorvem na faixa de comprimento de onda entre 400 - 500 nm e 600 - 700 nm, como taninos condensados e alguns pigmentos (Havsteen, 2002; Simões et al., 1999), não sendo observado no extrato aquoso. A semelhança observada de 200 a 425 nm se dá em função da relativa proximidade das polaridades de ambos solventes. Segundo Solomons (1996), a água é o solvente mais eficiente para promover a ionização, mas a maioria dos compostos orgânicos não se dissolve apreciavelmente em água.

O extrato em diclorometano apresentou uma semelhança nos valores de absorção para os comprimentos de onda abaixo de 345 nm, mostrando um mesmo perfil de decaimento observado nos demais extratos. Acima de 345 nm ocorre uma inversão do perfil espectral apresentando valores de absorvância do estágio IV menores que aqueles apresentados no estágio V. Entretanto, as concentrações relativas voltam a decair no estágio fenológico VII (Figura 6).

Medidas de deslocamento espectral em função

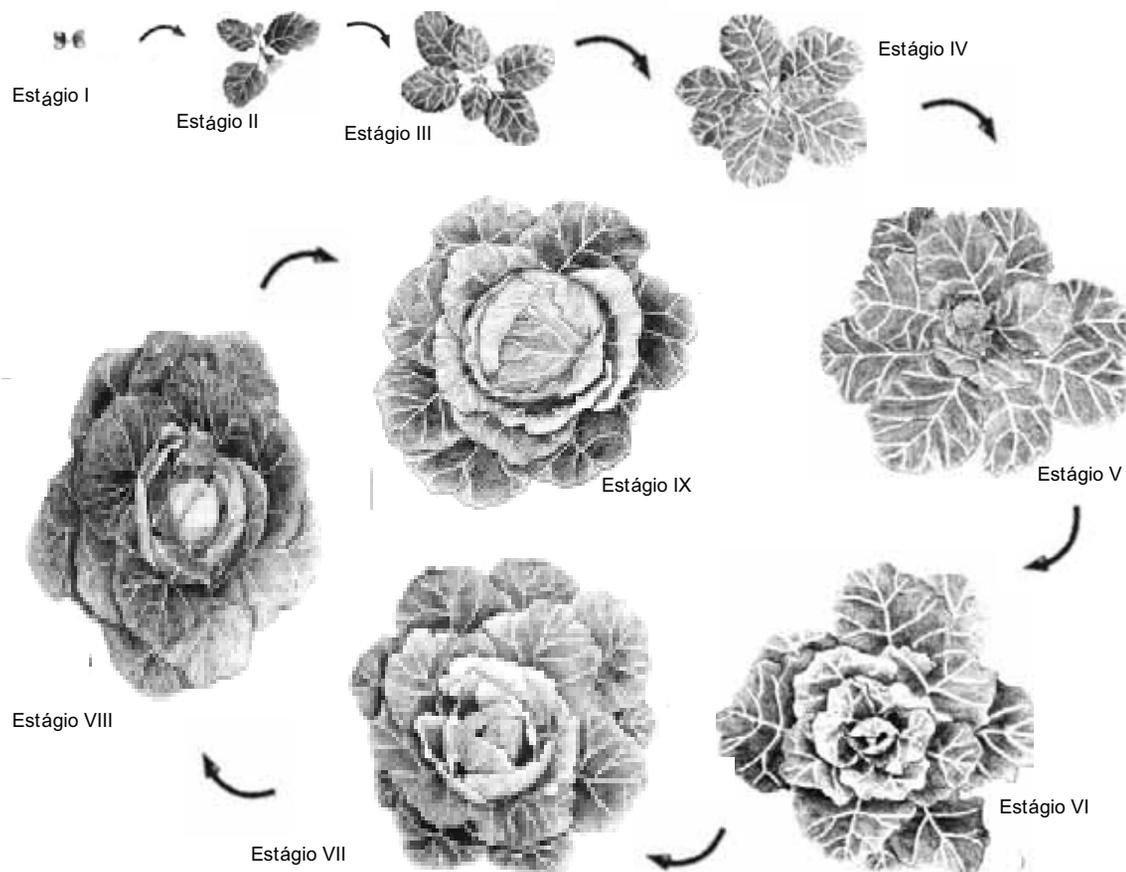


Figura 1. Representação esquemática do desenvolvimento fenológico da cultura da *Brassica* sp. (Fonte: Andaloro et al., 1983).

da hidrólise forçada (adição de concentrações e/ou gotas/volumes conhecidos de NaOH) e formação de pontos isobésticos (Skoog et al., 2002) em função do pH foram obtidos para todos os extratos aquosos nos diferentes



Figura 2. Foto do canteiro com repolho aos 40 dias, ou estágio fenológico IV (Andaloro et al., 1983) e espaçamento 30 x 30 x 50 cm.

estágios vegetativos. Na Figura 7 é mostrado o perfil espectral do extrato aquoso para o estágio IV onde é variado o pH de 5,85 - 11,01. Espectros foram medidos para valores de pH entre 1,0 e 5,0 e não apresentaram modificações significativas em suas estruturas, indicando uma protonação molecular para esta faixa de pH. Os espectros para os estágios V e VII não são mostrados, por apresentarem o mesmo perfil que o apresentado na Figura 7, sendo este um indicativo de manutenção das mesmas classes de compostos, porém em menores concentrações relativas para os diferentes estágios vegetativos. Observa-se também uma mudança significativa no espectro para valores de pH > 9,0 o que indica uma possível/plausível deprotonação de grupos funcionais apenas em pH alcalino.

Em termos dos resultados da prospecção fitoquímica, estes mostraram a presença positiva de compostos fenólicos, flavonóides, triterpenos e esteróides para os extratos etanólicos nos estágios IV e V. Contudo,



Figura 3. Estágios fenológicos de desenvolvimento da *Brassica oleracea* var. *capitata* selecionados para a análise. (a) estágio IV, (b) estágio V e (c) estágio VII. (Andaloro et al., 1983). Todas as coletas e registros fotográficos foram realizados às 08h00min.

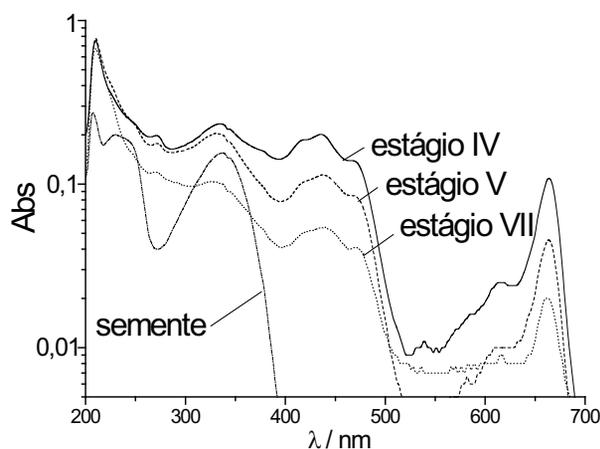


Figura 4. Espectro de absorção dos extratos etanólicos de *Brassica oleracea* var. *capitata* nos estágios fenológicos IV, V e VII e da semente. *A semente não se enquadra nos estágios fenológicos uma vez que não se verifica nenhuma mudança visível no seu fenótipo. Todas as frações foram preparadas a 0,1% (m/V - extrato seco/solvente) para as análises espectrométricas.

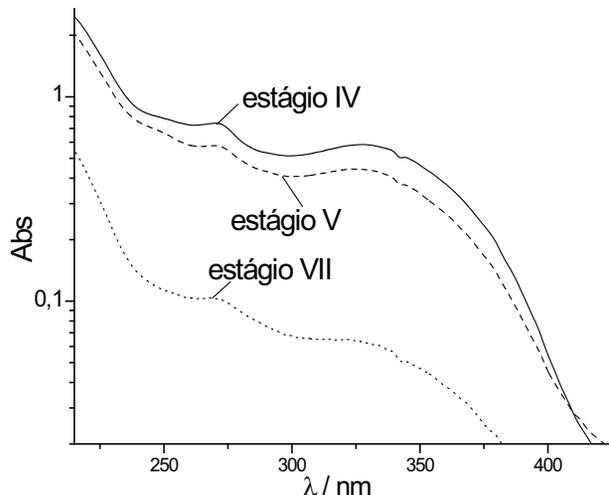


Figura 5. Espectro dos extratos aquosos de *Brassica oleracea* var. *capitata* para os estágios fenológicos IV, V e VII. Todas as amostras foram preparadas a 0,1% (m/V - extrato seco/solvente) para as análises espectrométricas.

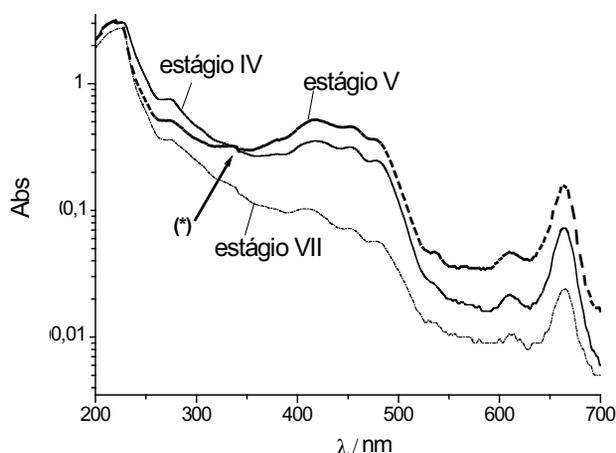


Figura 6. Espectro dos extratos em diclorometano de *Brassica oleracea* var. *capitata* nos estágios fenológicos IV, V e VII. A seta (*) demonstra onde há inversão no perfil espectral, apresentando para o estágio IV coeficientes de extinção menores que o estágio V. Para o estágio fenológico VII, o perfil de concentração global volta a decrescer. Todas as amostras foram preparadas a 0,1% (m/V - extrato seco/solvente) para as análises espectrométricas.

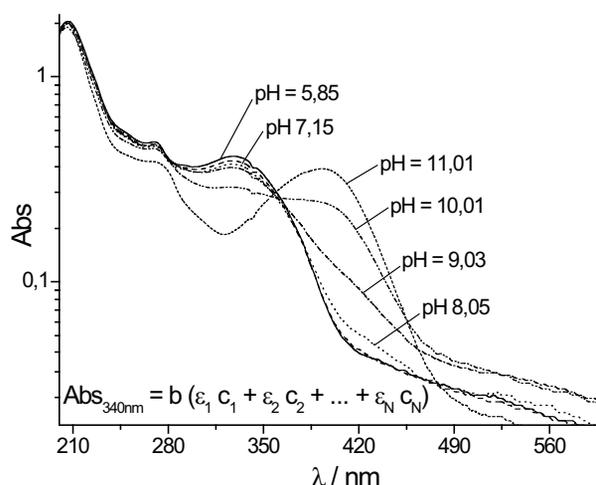


Figura 7. Influência do pH (hidrólise) para o extrato aquoso de *Brassica oleracea* var. *capitata* no estágio fenológico IV. (b = caminho óptico, 1 cm - cubeta de quartzo; (ϵ = absorvidade molar/ $M^{-1} cm^{-1}$; c = concentração dos constituintes em M (Molar) e N = número de constituintes). Todas as frações foram preparadas a 0,1% (m/V - extrato seco/solvente) para as análises espectrométricas.

Tabela 1. Análise química do solo empregado no cultivo da *Brassica* sp.

| Testes (unidade) | Referência (Aquino et al., 2005) | Resultados |
|--|----------------------------------|------------|
| pH | 6,1 | 6,10 |
| P (mg/dm ³) | 36,00 | 8,70 |
| K (mg/dm ³) | 91,00 | 146,30 |
| Ca ⁺ (Cmol _e /dm ³) | 3,6 | 3,58 |
| Mg ²⁺ (Cmol _e /dm ³) | 0,8 | 0,56 |
| Al ³⁺ (Cmol _e /dm ³) | -- | 0,32 |
| Acidez Potencial H + Al (Cmol _e /dm ³) | 2,1 | 2,30 |
| Matéria orgânica (Dag/Kg) | 1,52 | 2,6 |
| Prem. (Cmol _e /dm ³) | -- | 51,0 |
| Soma Bases S (Cmol _e /dm ³) | 5,00 | 4,52 |
| CTC (Capacidade de Troca Catiônica) a pH 7 T (Cmol _e /dm ³) | -- | 6,82 |
| CTC Efetiva t (Cmol _e /dm ³) | -- | 4,8 |
| Saturação de Bases V (%) | 68,00 | 66,3 |
| Saturação de Alumínio m (%) | -- | 6,61 |

Laudo da análise de solos, Laboratório de Agronomia, Univale.

o estágio V revelou ainda a possível presença de taninos e heterosídeos cardiotônicos. Os extratos aquosos dos estágios IV e V revelaram positivamente a presença de açúcares redutores, compostos fenólicos, taninos, flavonóides, cumarinas, heterosídeos cardiotônicos, triterpenos e esteróides. Os extratos etanólicos e aquosos do estágio VII revelaram a presença de açúcares redutores, compostos fenólicos, flavonóides, taninos e heterosídeos cardiotônicos. Os extratos em diclorometano, para todos os estágios fenológicos, apresentaram resultados negativos para todas as classes analisadas, devido à diferença na polaridade.

CONCLUSÃO

A partir de análises espectrométricas verificou-se que o estágio fenológico em que há maior concentração global relativa dos constituintes da *Brassica* sp. é o fenológico IV, para todos extratos (Tabela 3). Porém, uma variação considerável é percebida entre os mesmos devido à presença de constituintes que absorvem em comprimentos de onda distintos. Apesar dos constituintes encontrados em água serem de polaridade relativamente próxima aos do extrato etanólico, a água é o melhor

Tabela 2. Descrição dos estágios fenológicos da *Brassica oleracea* variedade *capitata*.

| Estágios | Características do desenvolvimento |
|----------|---|
| I | Cotilédone (folhas de semente). Nenhuma folha verdadeira presente. |
| II | Até 5 folhas verdadeiras*. |
| III | 6 a 8 folhas verdadeiras*. |
| IV | 9 a 12 folhas verdadeiras. Base de talo ainda visível de sobre. |
| V | Área foliar possui aproximadamente 13 a 19 folhas ao final desta fase. A base do talo e a bases de todas as folhas estão escondidas, quando a planta é vista de acima. As folhas do “coração” são visivelmente distintas das folhas circunvizinhas. |
| VI | Área foliar possui aproximadamente 20 a 26 folhas. O “coração” íntimo, parte que ainda está crescendo em uma moda vertical, é escondido pelas folhas maiores, mais velhas que os cercam. Folhas todo visíveis se tornarão depois o trame da parte da planta madura. |
| VII | O formato da cabeça é de aproximadamente 6,35 - 10,16 cm de diâmetro. O coração interno, em desenvolvimento com estrutura de uma bola de folhas, é escondido pelas folhas grandes circunvizinhas. Estas folhas não se apertam contra a cabeça em desenvolvimento e desdobrarão para se tornar folhas de armação posteriormente. |
| VIII | O formato da cabeça é de aproximadamente 7,62 - 20,32 cm de diâmetro. Uma cabeça firme é visível dentro das folhas de envoltura. A cabeça não tem conteúdo completamente desenvolvido e assim, não é de tamanho ideal para a colheita. |
| IX | O formato da cabeça é de aproximadamente 15,25 - 30,48 cm de diâmetro. Não há produção de folhas novas depois que a cabeça atinge seu tamanho máximo. A cabeça está pronta para colheita. |

(adaptado de Andaloro et al., 1983). * Folhas verdadeiras são as primeiras folhas geradas a partir dos cotilédones, na fase juvenil (Ferreira et al., 2001).

Tabela 3. Redução da concentração global relativa dos constituintes de extratos de *Brassica* sp. de acordo com o solvente e estágio fenológico.

| Solvente → Estágio ↓ | Etanol | | | Água | | | Diclorometano | | |
|---|----------------------|------|---------------|----------------|------|-------------|----------------|------|-------------|
| | $\lambda^{(o)}$ / nm | Abs* | Abs rel** (%) | λ / nm | Abs | Abs rel (%) | λ / nm | Abs | Abs rel (%) |
| IV | 400 | 0,14 | 100 | 265 | 0,72 | 100 | 270 | 0,75 | 100 |
| | 450 | 0,16 | 100 | 300 | 0,50 | 100 | 340 | 0,31 | 100 |
| | 660 | 0,09 | 100 | 325 | 0,58 | 100 | 410 | 0,34 | 100 |
| V | 400 | 0,08 | 57,1 | 265 | 0,57 | 79,2 | 270 | 0,52 | 69,3 |
| | 450 | 0,10 | 62,5 | 300 | 0,41 | 82,0 | 340 | 0,31 | 100 |
| | 660 | 0,04 | 44,4 | 325 | 0,44 | 75,9 | 410 | 0,49 | 144,1 |
| VII | 400 | 0,04 | 28,6 | 265 | 0,10 | 13,9 | 270 | 0,36 | 48,0 |
| | 450 | 0,05 | 31,3 | 300 | 0,07 | 14,0 | 340 | 0,14 | 45,2 |
| | 660 | 0,02 | 22,2 | 325 | 0,06 | 10,3 | 410 | 0,10 | 29,4 |
| Redução da concentração global relativa | | | 71,4 / 400nm | | | | 86,1 / 265nm | | |
| Estágio IV → VII em (%) | | | 68,7 / 450nm | | | | 86,0 / 300nm | | |
| | | | 77,7 / 660nm | | | | 89,6 / 325nm | | |
| Média ± s.d*** de redução (%) → | | | 72,6± 4,6 | | | | 87,2±2,0 | | |
| | | | | | | | 52,0 / 270nm | | |
| | | | | | | | 54,8 / 340nm | | |
| | | | | | | | 58,9 / 410nm | | |

*Abs = coeficiente de extinção (Absorvância); ** Abs rel = Absorvância relativa ao estágio IV; ***s.d = desvio padrão; ^(o) λ = comprimento de onda

extrator para os compostos de interesse como derivados polifenólicos. Isso leva a compreender que um veículo hidroalcoólico seria mais adequado para formulação de fitoterápicos à base de *Brassica* sp. de uso tópico.

O extrato realizado em diclorometano não apresentou um estágio fenológico predominante com uma uniformidade das concentrações dos constituintes na faixa espectral analisada. Assim, a escolha do solvente dependerá do constituinte ativo em questão, como evidencia Simões et al., 1999.

Este trabalho contribui para o aperfeiçoamento da aplicação do repolho na fitoterapia, visto que as

características demográficas e sazonais podem variar, mas não o estágio fenológico. A padronização do estágio fenológico permite uma redução no tempo do cultivo da cultura, de mão-de-obra e principalmente de injúrias causadas por pragas. Esta redução é importante para a economia na produção de extrato, pois como foi mostrado, não se necessita aguardar o estágio fenológico IX para a colheita, que leva em média 110 dias, dependendo das condições climáticas e ambientais da região.

Muitas formulações farmacêuticas nas farmácias magistrais são preparadas a partir de extratos brutos adquiridos de indústrias de fitoterápicos e com preços

acessíveis. Vale ressaltar que farmacêuticos poderão adquirir extratos brutos de *Brassica* sp. de indústrias que utilizam desta metodologia e conseqüentemente obterão melhores resultados na terapia da cicatrização de feridas dos seus clientes, pois os constituintes ativos encontrar-se-ão mais concentrados.

AGRADECIMENTO

Os autores agradecem à FAPEMIG, pelo apoio prestado.

REFERÊNCIAS

- Agra MF, França PF, Barbosa-Filho JM 2007. Synopsis of the plants known as medicinal and poisonous in Northeast of Brazil. *Rev Bras Farmacogn* 17: 114-140.
- Alberts B, Bray D, Johnson A, Lewis J, Raff M, Roberts K, Walter P 2006. *Fundamentos da Biologia Celular*. 2ª ed. Porto Alegre: Artmed, p. 630-631.
- Andaloro JT, Rose KB, Shelton AM, Hoy CW, Becker RF 1983. Cabbage Growth Stages. *New York's Food and Life Sciences Bulletin*, nº 101, p. 362-369.
- Andrade CA, Costa CK, Bora K, Miguel MD, Miguel OG, Kerber VA 2007. Determinação do conteúdo fenólico e avaliação da atividade antioxidante de *Acacia podalyriifolia* A. Cunn. ex G. Don, Leguminosae-mimosoideae. *Rev Bras Farmacogn* 17: 231-235.
- Antunes FR, Sarandy MM, Freire MCM, Silva MB, Malaquias LCC, Silva CA 2003. Ensaio de toxicidade do extrato de *Brassica* sp. em *Artemia salina*. In: Pesquisa científica e pós-graduação *stricto sensu* nas instituições de ensino superior, 2003, Governador Valadares. Anais do Simpósio de Pesquisa e Iniciação Científica. Governador Valadares, Brasil.
- Aquino LA, Puiatti M, Pereira PRG, Pereira FHF, Castro MRS, Ladeira IR 2005. Características produtivas do repolho em função de espaçamentos e doses de nitrogênio. *Hort Bras* 23: 266-270.
- Balbach A, Boarim D 1993. *As Hortaliças na Medicina Natural*. 2ª Ed. Itaquacetuba: Vida Plena, 280p.
- Barbosa-Filho JM, Vasconcelos THC, Alencar AA, Batista LM, Oliveira RAG, Guedes DN, Falcão HS, Moura MD, Diniz MFFM, Modesto-Filho J 2005. Plants and their active constituents from South, Central, and North America with hypoglycemic activity. *Rev Bras Farmacogn* 4: 392-413.
- Barreiros ALBS, Barreiros ML, David JM, David JP, Queiroz LP 2003. Atividade antioxidante de substâncias presentes em *Dioclea violacea* e *Erythroxylum nummularia*. *Rev Bras Farmacogn* 13 (Supl.): 8-11.
- Carbonezi CA, Hamerski LH, Gunatilaka AAL, Cavalheiro A, Castro-Gamboa I, Silva DHS, Furlan M, Young MCM, Lopes MN, Bolzani VS 2007. Bioactive flavone dimers from *Ouratea multiflora* (Ochnaceae). *Rev Bras Farmacogn* 17: 319-324.
- Carlini EA, Rodrigues E, Mendes FR, Tabach R, Gianfratti B 2006. Treatment of drug dependence with Brazilian herbal medicines. *Rev Bras Farmacogn* 16: 690-695.
- Deshpande SS, Cheryan M 1985. Evaluation of vanillin assay for tannin analysis of dry beans. *J Food Sci* 50: 905-910.
- Ferradeira IS, Antunes FR, Sarandy MM, Silva CA, Silva MB 2003. Levantamento do uso da pomada de *Brassica* sp. no município de Governador Valadares. In: Pesquisa científica e pós-graduação *stricto sensu* nas instituições de ensino superior, 2003, Governador Valadares. Anais do Simpósio de Pesquisa e Iniciação Científica. Governador Valadares, Brasil.
- Ferreira RA, Botelho AS, Davide AC, Malavasi MM 2001. Morphology of fruits, seeds, seedlings and saplings of *Dimorphandra mollis* Benth. - faveira (Leguminosae Caesalpinioideae). *Rev Bras Bot* 24: 303-309.
- Filgueira FAR 2000. *Novo Manual de Olericultura: agrotecnologia moderna na produção e comercialização de hortaliças*. Viçosa, MG: UFV, 402 p.
- Freire MCM, Sarandy MM, Antunes FR, Malaquias LCC, Silva CA, Silva MB 2003. *Bioensaio de Cicatrização em cobaios *Cavia cavya**. Anais do V Semana de Iniciação Científica. Coronel Fabriciano, Brasil.
- Gobbo-Neto L, Lopes NP 2007. Plantas medicinais: fatores de influência no conteúdo de metabólitos secundários. *Quim Nova*. 30: 374-381.
- Havsteen BH 2002. The biochemistry and medical significance of the flavonóides. *Pharm Therap* 96: 67-202.
- Jang MCAL, Udeani GO, Slwoing KV, Thomas CF, Beecher DM 1995. The red wine phenolics trans-resveratrol and quercetin block human platelet aggregation in eicosanoid synthesis: implication for protection against coronary heart disease. *Clin Chim Acta* 235: 207-219.
- Kawada N, Seki S, Inoue M, Kuroki T 1998. Effect of antioxidants, resveratrol, quercetin and N-acetylcysteine, on the functions of cultured rat hepatic stellate cells and kupfer cells. *Hepatology* 27: 1265-1274.
- Lédo FJS, Souza JA, Silva MR 2000. Avaliação de cultivares e híbridos de repolho no Estado do Acre. *Hort Bras* 18: 138-140.
- Miguel MD, Miguel OG 2000. *Desenvolvimento de Fitoterápicos*. São Paulo: Robe Editorial.
- Monteiro JM, Albuquerque UP, Lins Neto EMF, Araújo EL, Albuquerque MM, Amorim ELC 2006. The effects of seasonal climate changes in the Caatinga on tannin levels in *Myracrodruon urundeuva* (Engl.) Fr. All. and *Anadenanthera colubrina* (Vell.) Brenan. *Rev Bras Farmacogn* 16: 338-344.
- Pereira JV, Santos HB, Agra MF, Guedes DN, Modesto-Filho JM 2006. Use of cabbage leaves (*Brassica oleracea* var. *acephala*) in the stabilization of bone mass after menopause. *Rev Bras Farmacogn* 16: 345-349.
- Revista Biotecnologia Ciência e Desenvolvimento. *Controle de qualidade de ervas medicinais*. Edição nº 31, julho/dezembro, 2003.
- Rodrigues ACC, Osuna JTA 2004. Mudanças morfométricas em sementes na espécie angico (*Anadenanthera colubrina* (Vell.) Brenan var. *cebil* [Griseb.] Altschul) em diferentes condições ambientais. *Rev Bras Farmacogn* 14: 35-36.
- Santos SC, Costa WF, Batista F, Santos LR, Ferri PH, Ferreira HD, Seraphin JC 2006. Seasonal variation in the content of tannins in barks of barbatimão species. *Rev Bras Farmacogn* 16: 552-556.
- Sarandy MM, Silva MB 2003. *Avaliação da atividade*

- antimicrobiana do extrato de Brassica* sp. Anais do 5º Congresso Nacional de Biólogos. Ouro Preto, Brasil.
- Silva Júnior AA 1987. *Repolho: fitologia, fitotecnia, tecnologia alimentar e mercadológica*. Florianópolis: EMOASC.
- Silva Júnior AA, Miura L, Yokoyama S 1988. Repolho: novas cultivares de verão. *Agrop Catar 1*: 47-49.
- Simões CO, Schenkel EP, Gosmão G, Mello JCP, Mentz LA, Petrovick PR 1999. *Farmacognosia da Planta ao Medicamento*. 5ªed. Porto Alegre/Florianópolis: Editora UFRGS/ Editora UFSC.
- Solomons TWG 1996. *Química Orgânica*. 6ª ed. vol. 1. Rio de Janeiro: LTC S.A.
- Skoog DA, Holler, FJ, Nieman TA 2002. *Princípios de análise instrumental*. 5 ed. Porto Alegre: Bookman.
- Yariwake JH, Lanças FM, Cappelaro EA, Vasconcelos EC, Tiberti LA, Pereira AMS, Franca SC 2005. Variabilidade sazonal de constituintes químicos (triterpenos, flavonóides e polifenóis) das folhas de *Maytenus aquifolium* Mart. (Celastraceae). *Rev Bras Farmacogn 15*: 162-168.