

## **Potencial Antioxidante correlacionado a fenóis totais e antocianinas de cultivares de pequenas frutas**

### ***Potential Antioxidant correlated to total phenols and anthocyanins of berries cultivars***

Taiane Mota Camargo<sup>1</sup>, Elisa dos Santos Pereira<sup>2</sup>, Chirle de Oliveira Raphaelli<sup>3</sup>, Jardel Araújo Ribeiro<sup>4</sup>, Vanessa Fernandes Araújo<sup>5</sup>, Marcia Vizzotto<sup>6</sup>

#### **RESUMO**

As pequenas frutas possuem altas concentrações de compostos bioativos, dentre eles os fenólicos. Pertencentes a este grupo, estão as amoras-pretas e os mirtilos. Estas espécies são excelentes fontes de compostos fenólicos, incluindo antocianinas. Os compostos fenólicos, compostos estes oriundos do metabolismo secundário de plantas, apresentam alto potencial antioxidante, exibindo propriedades benéficas à saúde. Assim, este trabalho tem por objetivo avaliar o potencial antioxidante de cultivares de amora-preta e mirtilo e sua correlação com concentrações totais de compostos fenólicos e antocianinas. Para tal, determinou-se a concentração de antocianinas totais, compostos fenólicos totais e atividade antioxidante em quatro cultivares de amora (Caingangue, Tupy, Guarani e Cherokee) e quatro cultivares de mirtilo (Climax, Brite blue, Blue belle e Woodard). As cultivares de amora-preta apresentaram correlação fraca entre atividade antioxidante e compostos fenólicos, e não apresentaram correlação entre atividade antioxidante e antocianinas. Já as cultivares de mirtilo apresentaram forte correlação entre atividade antioxidante e compostos fenólicos totais, e nenhuma correlação entre atividade antioxidante e antocianinas totais. A correlação encontrada entre a atividade antioxidante e a concentração de compostos fenólicos totais nas cultivares de mirtilo pode ser atribuída ao sinergismo dos compostos fenólicos presentes.

**Palavras-chave:** amora-preta, mirtilo, correlação.

#### **ABSTRACT**

*Berries have high concentrations of bioactive compounds, such as phenolic compounds. Belonging to the berries group this class are blackberries and blueberries. Both species are excellent sources of phenolic compounds, including anthocyanins. Phenolic compounds which are derived from secondary plant*

<sup>1</sup>Bacharel em Química de Alimentos, Mestranda em Ciência e Tecnologia de Alimentos da Universidade Federal de Pelotas.

<sup>2</sup>Nutricionista, Mestranda em Ciência e Tecnologia de Alimentos da Universidade Federal de Pelotas.

<sup>3</sup>Nutricionista, Doutoranda em Ciência e Tecnologia de Alimentos da Universidade Federal de Pelotas.

<sup>4</sup>Biólogo, Doutorando em Ciência e Tecnologia de Alimentos da Universidade Federal de Pelotas.

<sup>5</sup>Engenheira Agrônoma, Dra. em Agronomia da Embrapa Clima Temperado.

<sup>6</sup>Ph.D e Pesquisadora da Embrapa Clima Temperado.

*metabolism, have high antioxidant potential, and exhibit beneficial health properties. Therefore, the objective of this work was to evaluate the antioxidant potential and its correlation with total phenolic content and total anthocyanins of blackberry and blueberry cultivars grown in a temperate climate region. The concentration of total anthocyanins, total phenolic compounds and antioxidant activity in four blackberry cultivars (Caingangue, Tupy, Guarani and Cherokee) and four blueberry cultivars (Climax, Brite Blue, Blue Belle and Woodard) were determined. The blackberry cultivars had a weak correlation between antioxidant activity and phenolic compounds, and did not present a good correlation between antioxidant activity and anthocyanins. The blueberry cultivars presented a strong correlation between antioxidant activity and phenolic compounds, and has no correlation between antioxidant activity and anthocyanins. The correlation between antioxidant activity and phenolic compounds in the blueberry cultivars can be attributed to both the synergism of the phenolic compounds.*

**Keywords:** *blackberry, blueberry, correlation.*

## INTRODUÇÃO

As pequenas frutas são caracterizadas pela presença de altas concentrações de uma variedade de compostos bioativos, incluindo antocianinas, compostos fenólicos, ácidos orgânicos, taninos e flavonoides (GUEDES, et al., 2017). São, muitas vezes, a fonte mais rica em compostos fenólicos entre frutas e vegetais, com grande variedade destes compostos em suas espécies, atraindo, assim, muita atenção devido ao seu papel positivo na saúde humana e na prevenção de doenças. Esses compostos são responsáveis pela alta capacidade de eliminação de radicais livres medida por ensaios in vitro e in vivo (VEBERIC, et al., 2014), exibem uma potente atividade antioxidante e são amplamente necessários para evitar a deterioração de produtos oxidáveis, tais como cosméticos e produtos alimentares (GUEDES, et al.,2017). A amora-preta e o mirtilo pertencem ao grupo das pequenas frutas.

As amoras-pretas (*Rubus spp.*) podem ser encontradas cultivadas ou não (frutas nativas) (VEBERIC, et al., 2014). São consideradas excelentes fontes de compostos fenólicos, existindo uma grande diversidade de características, dependendo da cultivar, tanto no sabor quanto na coloração; estas diferenças estão associadas ao conteúdo de polifenóis e ao perfil da fruta (GUEDES, et al.,2017). O sabor da amora-preta é principalmente definido pelo equilíbrio entre os açúcares e os ácidos orgânicos. Com amadurecimento avançado, os níveis de conteúdo de

açúcares aumentam e os de ácidos orgânicos diminuem, resultando em frutas mais saborosas. A cor intensa e quase negra das amoras-pretas pode estar correlacionada com a composição e níveis elevados de várias antocianinas presentes nas células das frutas (VEBERIC, et al., 2014). Além disso, a composição química da fruta é influenciada por múltiplos fatores genéticos, o que limita a qualidade e a aceitação do consumidor. A fruta *in natura* é altamente nutritiva contendo aproximadamente 85% de água, 10% de carboidratos, além de minerais como cálcio, vitaminas A e B (ANTUNES, 2002).

Os mirtilheiros (*Vaccinium ashei Reade*) são plantas pertencentes à família Ericaceae, dentro do gênero *Vaccinium*. Os mirtilos são frutas nutritivas, pois são fontes de carboidratos, vitaminas e minerais, além de serem uma boa fonte de fibras alimentares que constituem 3 - 3,5% do peso do fruto. Há vários efeitos benéficos associados ao consumo de mirtilo, sendo que estes efeitos estão ligados às propriedades bioativas dos compostos fenólicos que o constituem. Dentre os compostos bioativos contidos nos mirtilos são ácido ascórbico, flavonóis, ácidos hidroxicinâmicos, ácidos hidroxibenzóicos, entre outros. Os benefícios potenciais do mirtilo para a saúde humana receberam muita atenção nos últimos anos devido à presença destes compostos bioativos (SHI, et al., 2017).

O programa de melhoramento de pequenas frutas no Brasil está localizado na Embrapa Clima Temperado em Pelotas, e compreende o mirtilo e a amora-preta. Este programa foi responsável pelo lançamento de diversas cultivares como a 'Ébano', a 'Negrita', a 'Guarani', a 'Caingangue', a 'Xavante', mas nenhuma tão conhecida quanto a 'Tupy'. A cultivar Tupy foi lançada em 1988 e é uma das mais plantadas no Brasil e em outros países como o México. Os programas de melhoramento de amoreira-preta têm, tradicionalmente, como objetivos a produtividade, a aparência (tamanho, cor e brilho), a firmeza e o sabor. No entanto, nos últimos anos, outras características também se fazem importante como os teores de compostos bioativos e a capacidade antioxidante das frutas, pois vários estudos mostram que o consumo de frutas e hortaliças ricas em compostos bioativos podem prevenir vários tipos de doenças crônicas não transmissíveis (VIZZOTTO, et al., 2012).

Tendo em vista as características benéficas para a saúde humana das pequenas frutas, este trabalho teve como objetivo avaliar o potencial antioxidante e sua correlação com compostos fenólicos e antocianinas totais de cultivares de amora-preta e de mirtilo.

## **MATERIAIS E MÉTODOS**

### **1.1 Preparo das amostras**

A amora-preta e o mirtilo foram colhidos e armazenadas em freezer a  $-18^{\circ}\text{C}$  até o momento das análises, quando foram selecionadas, de forma visual, por tamanho e cor. As frutas inteiras foram picadas com auxílio de faca de cozinha, e destas, foram retiradas para análise amostras de 5g. As análises foram realizadas em triplicata. Foram avaliadas as cultivares de amora-preta Caingangue, Tupy, Guarani e Cherokee, e as variedades de mirtilo Climax, Brite blue, Blue belle e Woodard.

### **1.2 Análise de antocianinas totais**

A metodologia utilizada foi proposta por FULEKI e FRANCIS (1968), com adaptações. Adicionou-se 5 g de amostra e 15 mL de etanol acidificado (na proporção 85:15) em um tubo tipo falcon e homogeneizou-se a amostra em ultraturrax em velocidade máxima até consistência uniforme. Centrifugou-se o extrato por 20 minutos a 4000 RPM na temperatura de  $0^{\circ}\text{C}$ . Separou-se o sobrenadante para análise. O extrato foi armazenado em ambiente protegido de incidência luz durante 30 minutos. Após os 30 minutos, zerou-se o espectrofotômetro com etanol acidificado, e fez-se a leitura das amostras em um comprimento de onda de 535 nm.

Os resultados foram expressos em mg cianidina 3-glucosídio/100 g de amostra.

### **1.3 Análise de fenólicos totais**

A metodologia utilizada para determinação de compostos fenólicos totais foi proposta por Swain e Hillis (1959), com adaptações. Em tubos de ensaio, foram pipetados 250  $\mu\text{l}$  da amostra (5g da fruta + 20 mL de metanol), e adicionados 4 mL

de água ultrapura e 250 µl do reagente Folin-Ciocalteu (0,25N). Os tubos foram agitados e mantidos por 3 minutos para reagir. Após este tempo, adicionaram-se 500 µl de carbonato de sódio (1N), e os tubos novamente foram agitados e mantidos por 2 horas para completar a reação. O espectrofotômetro foi zerado com metanol, e foram realizadas as leituras de absorvância em comprimento de onda de 725 nm. Os resultados foram expressos em mg de ácido clorogênico/100 g de amostra.

#### **1.4 Análise de atividade antioxidante**

A metodologia utilizada para a determinação da atividade antioxidante baseou-se no método proposto por Brand-Williams e colaboradores (1995), com adaptações. Para tal, foram pipetados 200 µl de amostra (5g da fruta + 20 mL de metanol) e misturados com 3.800 µl de DPPH (diluído em metanol) em tubos falcon. Os tubos foram agitados e deixados para reagir por 24 horas. Para a leitura no espectrofotômetro, zerou-se o equipamento com metanol, e a absorvância foi medida no comprimento de onda de 525 nm. Os resultados foram expressos em µg trolox/g de amostra.

#### **1.5 Análise estatística**

A análise estatística foi realizada através do sistema de análise estatística Winstat – versão 2.11. Os dados foram submetidos à análise de variância e, as variáveis com efeito significativo para o fator genótipo tiveram suas médias comparadas pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade de erro.

### **Resultados e Discussão**

Na tabela 1 são apresentados os resultados obtidos nas análises de compostos fenólicos totais, antocianinas totais e atividade antioxidantes encontrados nas cultivares de amora-preta.

**Tabela 1.** Concentrações totais de antocianinas, compostos fenólicos e atividade antioxidante presentes em cultivares de amora-preta.

---

<b>Acessos</b>	<b>Antocianinas Totais</b>	<b>Fenóis Totais (mg/100g)</b>	<b>Atividade Antioxidante</b>
----------------	--------------------------------	------------------------------------	-----------------------------------

(mg/100g)		(µg/g)	
<b>Caingangue</b>	246.00 c	1054.28 a	32401.26 a
<b>Tupy</b>	527.25 a	725.66 c	31019.03 b
<b>Guarani</b>	522.47 a	854.67 bc	32502.48 a
<b>Cherokee</b>	366.28 b	996.20 ab	30660.64 b

\*Médias seguidas pelas mesmas letras na coluna não diferem entre si pelo Teste de Tukey ( $\alpha=0,05$ ).

Em relação às antocianinas podemos observar que a cultivar que apresentou maior concentração de compostos fenólicos foi a cultivar Tupy, seguida da cultivar Guarani. Porém, não há diferença estatística entre as cultivares em relação a concentração de compostos fenólicos. A cultivar Caingangue apresentou a menor concentração de todas as cultivares estudadas.

Em relação aos compostos fenólicos, pode-se observar que a cultivar Caingangue apresentou uma maior concentração deste composto, seguida da cultivar Cherokee.

A cultivar que apresentou maior atividade antioxidante foi a Guarani, seguida da cultivar Caingangue, porém, estatisticamente, as cultivares não diferem entre si. Com uma menor atividade antioxidante temos a cultivar Cherokee, seguida da Tupy, porém, ambas não diferiram estatisticamente.

Estudos realizados em 18 diferentes cultivares de amoras-pretas dos Estados Unidos, França, Macedônia, Chile e México apresentaram teores de antocianinas de 70 a 201 mg/100 g em peso fresco (FERREIRA, et al.,2010). Já HASSIMOTO e colaboradores (2008) avaliaram cultivares de amoras-pretas (*R. eubatus*) Caingangue, Brazos, Tupy, Guarani e Seleção 97, da Estação Experimental (EPAMIG/FECD) de Minas Gerais (Brasil), e encontraram teores de antocianinas de 116 a 194 mg/100 g, teores de flavonoides totais de 123 a 233 mg/100 g, e teores de compostos fenólicos de 373 a 499 mg/100 g, todos estes em peso fresco da fruta. Os resultados encontrados nas cultivares estudadas são em maior parte superiores aos encontrados pelos autores citados.

Em relação aos cultivares de mirtilo estudados, os teores de antocianinas, compostos fenólicos e atividade antioxidante são apresentados na tabela 2.

**Tabela 2.** Concentrações totais de antocianinas, compostos fenólicos e atividade antioxidante presentes em cultivares de mirtilo.

<b>Cultivar</b> <b>(mg/100g)</b>	<b>Antocianinas</b> <b>Totais</b>	<b>Fenóis Totais</b> <b>(mg/100g)</b> <b>(µg/g)</b>	<b>Atividade</b> <b>Antioxidante</b>
<b>Climax</b>	639.22 a	2622.27 b	7499.72 b
<b>Brite blue</b>	325.00 b	3411.97 a	15835.44 a
<b>Blue belle</b>	516.10 a	3429.92 a	15168.88 a
<b>Woodard</b>	535.98 a	1809.11 c	7529.48 b

\*Médias seguidas pelas mesmas letras na coluna não diferem entre si pelo Teste de Tukey ( $p \leq 0,05$ ).

Em relação as antocianinas, podemos observar que a cultivar Climax apresentou a maior concentração deste composto, porém, não houve diferença significativa, estatisticamente, entre as variedades, com exceção da cultivar Brite blue.

A cultivar que apresentou maior concentração de compostos fenólicos totais foi a Blue belle, não diferindo estatisticamente da cultivar Brite blue, porém, apresentando um teor mais elevado que as cultivares Climax e Woodard, e assim, diferindo estatisticamente destas.

Em relação à atividade antioxidante, as cultivares que se destacaram foram a Woodard e a Climax, respectivamente, sendo que as mesmas não diferiram estatisticamente entre si, mas diferiram das variedades Brite blue e Blue belle, que apresentaram atividade antioxidante mais baixa.

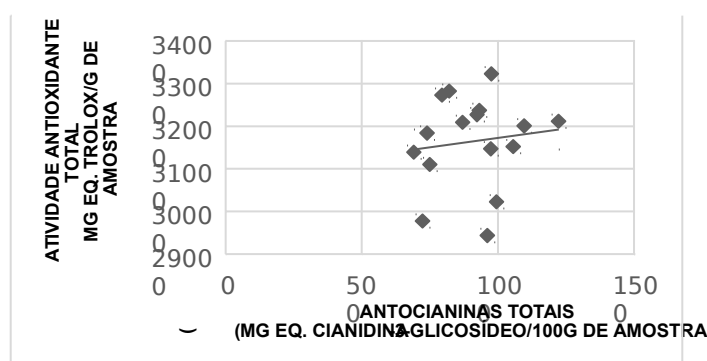
EHLENFELDT e colaboradores (2001) estudaram as cultivares de mirtilo Bluegem e Blue Belle, encontrando teores de 179mg/100g e 136mg/100g, respectivamente para teor de antocianinas. Neste estudo, para a cultivar Blue belle foi observada uma concentração de 516,10mg/100g, concentração esta muito superior a encontrada pelos autores.

**3. 1 Correlação entre os constituintes da fruta e a capacidade antioxidante** Os coeficientes de correlação entre a atividade antioxidante e antocianinas totais e a atividade antioxidante e os compostos fenólicos totais é apresentado na tabela 3 nas cultivares de amora-preta e mirtilo.

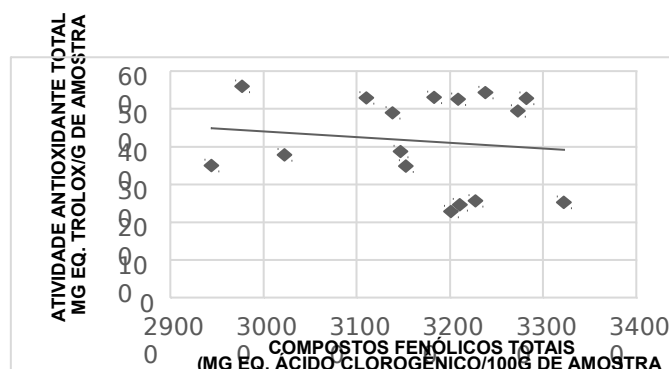
**Tabela 3.** Coeficientes de correlação das frutas estudadas.

<b>Correlação</b>	<b>Amora-preta</b>	<b>Mirtilo</b>
Atividade antioxidante x Antocianinas	-0,13	-0,70
Atividade antioxidante x Compostos fenólicos	0,12	0,89

As figuras 1 e 2 apresentam a correlação entre a atividade antioxidante e antocianinas totais, e a correlação entre a capacidade antioxidante e os compostos fenólicos totais, respectivamente, das cultivares de amora-preta. Já as figuras 3 e 4, a correlação entre a atividade antioxidante e as antocianinas, e a correlação entre a capacidade antioxidante e os compostos fenólicos totais, das cultivares de mirtilo.



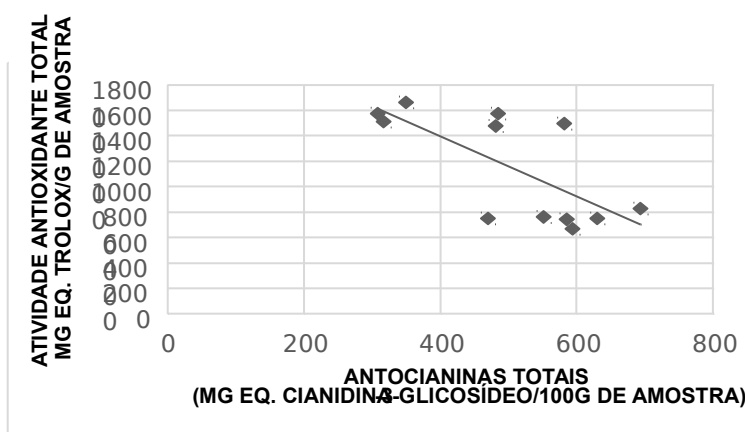
**Figura 1.** Correlação entre a atividade antioxidante e antocianinas totais das cultivares de amora-preta.



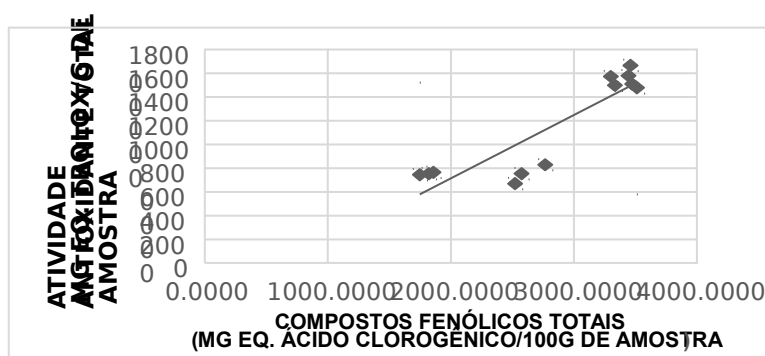
**Figura 2.** Gráfico de correlação entre a atividade antioxidante e os compostos fenólicos totais dos acessos de amora-preta



A concentração de antocianinas não se correlacionou bem com a atividade antioxidante nas cultivares de amora-preta, apresentando um coeficiente de correlação de -0,13. A correlação entre os compostos fenólicos totais e a atividade antioxidante apresentou um coeficiente de correlação de 0,12, ou seja, as variáveis possuem uma correlação muito fraca.



**Figura 3.** Gráfico de correlação entre a atividade antioxidante e antocianinas totais das cultivares de mirtilo.



**Figura 4.** Gráfico de correlação entre a atividade antioxidante e compostos fenólicos totais das cultivares de mirtilo.

A correlação entre a atividade antioxidante e o teor de antocianinas totais nos cultivares de mirtilo foi de -0,70, correlação esta negativa. Assim, podemos dizer que as duas variáveis movem-se em direções opostas. Já a correlação entre a atividade

antioxidante e os compostos fenólicos totais foi de 0,89, correlação esta considerada forte, ou seja, há grande correlação entre estas duas variáveis.

O efeito dos compostos fenólicos sobre a capacidade antioxidante ainda não está totalmente esclarecido, porém, LEE e colaboradores (2003), em seus estudos, sugerem que a expressão da atividade antioxidante se dá por um sinergismo entre vários compostos fenólicos, não podendo assim ser atribuída a um único constituinte.

Para que se possa atribuir esta correlação a um único composto fenólico, é necessário que hajam estudos que tracem o perfil destes compostos de forma isolada, avaliando assim seus efeitos sobre a atividade antioxidante. FUKUMOTO e MAZZA (2000), em seus estudos, avaliaram a atividade antioxidante de compostos fenólicos e concluíram que a atividade antioxidante cresce proporcionalmente com o aumento no número de grupamentos hidroxila e com a diminuição de grupos glicosilados.

### **Conclusão**

O teor de antocianinas e fenóis totais, assim como no poder antioxidante, nas cultivares de amora-preta estudados foi variável. Através dos resultados obtidos pode-se notar que o teor de compostos fenólicos está fortemente correlacionado a atividade antioxidante, nas cultivares de mirtilo, porém, nas cultivares de amorapreta, a correlação é fraca. Já em relação às antocianinas, nem as cultivares de amora-preta nem de mirtilo apresentaram correlação com a atividade antioxidante.

### **Referências**

ANTUNES, L. E. C. Amora-preta: nova opção de cultivo no Brasil. **Ciência Rural**, Santa Maria, v. 32, n. 1, p. 151-158, 2002.

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

VIZZOTTO, M.; BIALVES, T. S.; ARAÚJO, V. F.; KROLOW, A. C. Compostis bioativos e atividade antioxidante em genótipos de amoreira-preta. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE FRUTICULTURA, XXII, 2012, BENTO GOLÇALVES.

EHLENFELDT, M.; PRIOR, R.L. Oxygen radical absorbance capacity (ORAC) and phenolic and anthocyanin concentrations in fruit and leaf tissues of highbush blueberry. **Journal of Agricultural Food Chemistry** V.49,p. 2222-2227 ,2001.

FERREIRA, D. S.; ROSSO, V. V.; MERCADANTE, A. Z. COMPOSTOS BIOATIVOS PRESENTES EM AMORA-PRETA (Rubus spp.) **Revista Brasileira de Fruticultura**, Jaboticabal - SP, v. 32, n. 3, p. 664-674, Setembro, 2010.

FUKUMOTO, L.R.; MAZZA, G. Assessing antioxidant and prooxidant activities of phenolic compounds. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**. v.48,p.3597-3604, 2000.

FULEKI, T.; FRANCIS, F. J. Quantitative methods for anthocyanins. Extraction and determination of total anthocyanin in cranberries. **Journal Food Science**, v.33, 7277 p., 1968.

GUEDES, M. N. S.; PIO, R.; MARO, L. A. C.; LAGE, F. F.; ABREU, C. M. P.; SACZC, A. A. Antioxidant activity and total phenol content of blackberries cultivated in a highland tropical climate. **Acta Scientiarum**, Maringá, v. 39, n. 1, p. 43-48, Jan.Mar., 2017.

HASSIMOTTO, N.M.A.; MOTA, R.V.; CORDENUNSI, B.R.; LAJOLO, F.M. Physicochemical characterization and bioactive compounds of blackberry fruits (Rubus sp.) grown in Brazil. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, Campinas, v.28, n.3, p.702708, 2008.

LEE, K.W.; KIM, Y.J.; LEE, H.J.; LEE, C. Y. Cocoa has more phenolic phytochemicals and a higher antioxidant capacity than teas and red wine. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**. v.51,p.7292-7295, 2003.



SHI, M., LOFTUS, H.; MCAINCH, A. J.; SU, X. Q. Blueberry as a source of bioactive compounds for the treatment of obesity, type 2 diabetes and chronic inflammation.

**Journal of Functional Foods**. P. 16–29, 2017.

SWAIN, T.; HILLIS, W. E. The phenolic constituents of *Prunus domestica* i.- The quantitative analysis of phenolic constituents. **Journal of Science and Food Agriculture**. Washington, v. 10, p. 63-68, 1959.

VEBERIC, R.; STAMPAR, F.; SCHMITZER, V.; CUNJA, V.; ZUPAN, A.; KORON, D.; PETKOVSEK, M. M. Changes in the Contents of Anthocyanins and Other Compounds in Blackberry Fruits Due to Freezing and Long-Term Frozen Storage.

**Journal of Agricultural and Food Chemistry**, 62, p. 6926–6935, 2014.