

Evolução dos compostos fenólicos e da capacidade antioxidante durante a maturação de frutos vermelhos (framboesa, groselha e mirtilo) de produção biológica

Susana M. A. Soutinho¹, Fernando J. Gonçalves^{1,2,*}, António M. Jordão^{1,2}, Raquel P. F. Guiné^{1,2}

¹ Dep. Indústrias Alimentares – Escola superior Agrária de Viseu, Viseu, Portugal.

² CI&DETS – Instituto Politécnico de Viseu, Viseu, Portugal. *e-mail: [goncalves7ster@gmail.com](mailto:gonalves7ster@gmail.com)

Resumo

O modo de produção biológico distingue-se de outros métodos de produção pelo seu equilíbrio e ação construtiva nos sistemas agrícolas. Nos últimos anos, tem havido um interesse crescente em alimentos de origem biológica. Ao mesmo tempo, tem crescido a procura por frutos devido à sua composição em compostos biologicamente ativos, associados a efeitos benéficos para a saúde humana.

Neste trabalho foram estudados três frutos vermelhos, framboesa, groselha e mirtilo, produzidos em modo biológico. Com a execução do trabalho pretendeu-se estudar a evolução do teor em compostos fenólicos e da capacidade antioxidante destes frutos vermelhos ao longo da maturação.

Os resultados mostraram que os compostos fenólicos totais dos três frutos decresceram ao longo da maturação, tanto no extrato de metanol como no de acetona. O teor em compostos fenólicos do extrato de metanol era superior quando comparado com o extrato de acetona. O mirtilo foi, entre os frutos estudados, o que apresentava teores mais elevados de compostos fenólicos. Os teores de taninos e antocianinas totais quantificadas no mirtilo e na groselha aumentaram ao longo da maturação. Pelo contrário, a framboesa continua, no final da maturação, teores mais baixos destes compostos. No final da maturação, os teores mais elevados de taninos e de antocianinas foram observados no mirtilo. Ao longo da maturação verificou-se um decréscimo na percentagem relativa das formas monoméricas das antocianinas. No final da maturação, todos os frutos apresentavam valores semelhantes de capacidade antioxidante quando determinada pelo método DPPH. No caso do método ABTS, o mirtilo mostrou valores mais elevados de capacidade antioxidante.

Palavras-chave: frutos vermelhos, compostos fenólicos, capacidade antioxidante, maturação

Evolution of phenols and antioxidant capacity during maturation of red fruits (raspberry, blackcurrant and blueberry) from biological production

Abstract

Organic farming or biological production mode differs from other production methods for its balanced and constructive action in agricultural systems. Currently there has been increasing interest in organically produced food. In parallel, has increased the demand for fruits, given their high content of biologically active phytochemical compounds, capable of delaying the onset of diseases, contributing to the health and welfare of humans.

In this work were studied three red fruits, raspberry, blackcurrant and blueberry, produced in organic mode, aiming at knowing the evolution of the content of phenolic compounds and the antioxidant capacity of these red fruits throughout maturation. Samples of the fruits were harvested at six dates covering different stages, from the beginning to the end of maturation.

The results showed that the total phenolic compounds in all fruits decreased along maturation, either in the methanol or acetone extracts, although in methanol extracts the levels of phenolic compounds were always higher as compared to the acetone extracts. The blueberry showed higher levels of total phenolics in both extracts. The amounts of total tannins and anthocyanins quantified in blueberries and in blackcurrants increased throughout maturation. On the contrary, raspberries had lower levels of these compounds at the end of ripening, compared with the beginning of maturation. At the end of maturation, higher levels of total tannins and anthocyanins were observed in blueberries. Throughout maturation it was observed for the three fruits a decrease in the relative percentage of monomeric forms of anthocyanins. At the end of maturation, all fruits studied had similar values of antioxidant capacity as determined by DPPH method. For the ABTS method, blueberries showed higher values of antioxidant activity.

Keywords: red fruits, phenolic compounds, antioxidant capacity, maturation

Introdução

A agricultura biológica distingue-se de outros sistemas de produção porque exclui quase todos os produtos químicos, recorrendo a rotações culturais, resíduos orgânicos das culturas e da exploração. As técnicas utilizadas contribuem, também, para o equilíbrio do ecossistema (Soutinho, 2012).

Os frutos vermelhos são alimentos bastante completos e que devem fazer parte de uma dieta equilibrada. A framboesa, o mirtilo e a groselha, possuem compostos fenólicos, essencialmente antocianinas, proantocianidinas, ácidos fenólicos e catequinas (Sousa et al., 2007), os quais são responsáveis nomeadamente pela sua capacidade antioxidante (Koca et al., 2009).

O mirtilo (*Vaccinium corymbosum*) é conhecido por conter níveis consideráveis de compostos fenólicos, incluindo antocianinas, flavonóides e proantocianidinas que têm elevada atividade biológica, fornecendo benefícios para a saúde como antioxidantes (Koca et al., 2009). A framboesa (*Rubus Idaeus*), também bastante rica em compostos fenólicos principalmente em antocianinas, contém cianidina-3-soforósido e cianidina-3-glucósido (Mullen et al. 2002). A groselha (*Phyllanthus distichus*) é particularmente rica em vitamina C, especialmente a groselha negra e a vermelha. Age eficazmente como inibidor de radicais livres, possuindo uma grande diversidade de fitoquímicos antioxidantes (Pantelidis et al., 2007).

O objetivo deste trabalho foi estudar a evolução do teor em compostos fenólicos e da capacidade antioxidante ao longo da maturação de frutos vermelhos.

Material e Métodos

Neste trabalho foram usadas amostras de framboesa, groselha e mirtilo produzidas em modo de produção biológica. As amostras foram colhidas entre os dias 03-06 e 9-07 de 2010, ao longo da maturação.

Os compostos fenólicos presentes nos frutos foram extraídos segundo adaptação do método proposto por Ferreira et al. (2002). A extração dos compostos fenólicos foi efetuada através de maceração e extrações sucessivas com uma solução de metanol:ácido acético (98:2) (3x) e acetona/água (60:40) (3x), durante 1 hora, com agitação magnética à temperatura ambiente. O procedimento executado deu origem ao extrato de metanol e ao extrato de acetona, respetivamente.

Os compostos fenólicos totais foram determinados pelo método de Folin-Ciocalteu (Singleton and Rossi, 1965). Os taninos totais foram estimados de acordo com o método descrito por Ribereau-Gayon and Stonestreet (1966). As antocianinas totais foram determinadas usando o método descrito por Boulton (2001). A determinação da percentagem das várias formas de polimerização das antocianinas, ou seja, antocianinas monoméricas, poliméricas e co-pigmentadas, foi efetuada por adaptação do método de Mazza et al., (1999). A capacidade antioxidante foi determinada através dos métodos do DPPH e ABTS, descritos respetivamente por Brand-Williams et al. (1995) e Miller et al. (1993).

Resultados e Discussão

A Figura 1 mostra a evolução dos compostos fenólicos totais presentes nos extratos de metanol e de acetona, expressos em equivalentes de ácido gálico (EAG) por grama, ao longo da maturação para os diferentes frutos estudados.

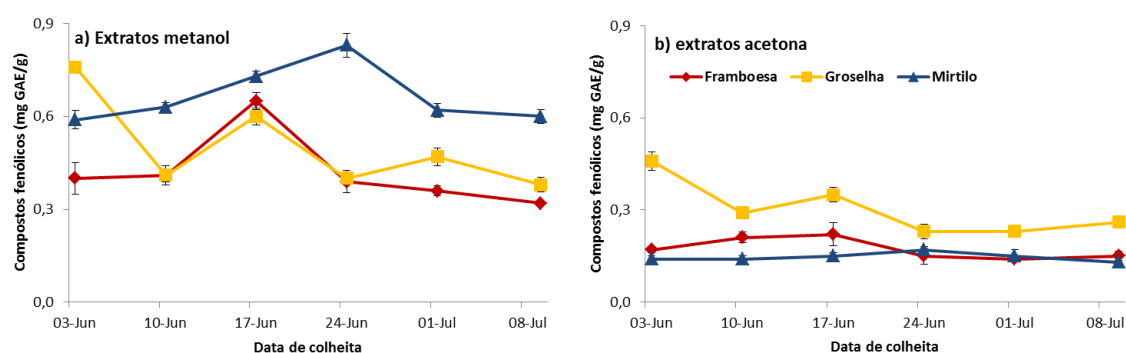


Figura 1. Evolução do teor em compostos fenólicos totais presentes nos extratos de metanol e de acetona para os três frutos estudados ao longo da maturação.

No início da maturação (03-Junho) a amostra de groselha apresentava um valor de compostos fenólicos totais, superiores em relação aos outros dois frutos. É possível verificar que, ao longo da maturação do fruto, o teor em compostos fenólicos totais presentes nos extratos de metanol e de acetona manteve-se aproximadamente constante para a framboesa e para o mirtilo. Pelo contrário, no caso da groselha verificou-se, apesar das oscilações, uma tendência para uma diminuição desses valores. A quantidade de compostos fenólicos presentes no extrato de metanol foi sempre superior ao do extrato de acetona, para todos os frutos, em qualquer uma das datas de colheita.

No final da maturação (8 Jul), o total de compostos fenólicos dos três frutos, obtidos pela soma dos dois extratos, eram diferentes. A amostra de mirtilo (0,73 mg/g EAG) apresentava o valor mais elevado, sendo que 82 % foram obtidos no extrato de metanol. A groselha era composta por 0,64 mg GAE/g fruto, e a framboesa por 0,47 mg GAE/g fruto, dos quais 59% e 68%, respetivamente, foram obtidos nos extratos de metanol. Estes valores são inferiores aos descritos na bibliografia (Kuskoski *et al.*, 2006, Sun *et al.*, 2002) para a uva (1,17 e 1,82 mg/g EAG) e morango (1,32 e 1,48 mg/g EAG).

A tabela 1 apresenta a evolução da atividade antioxidante ao longo da maturação, determinada pelos métodos do ABTS e DPPH, para os extratos de metanol e acetona. Apesar da magnitude da diferença ser maior no método ABTS, os valores da atividade antioxidante dos extratos de metanol eram superiores aos dos extratos de acetona. Os três frutos tiveram evoluções diferentes ao longo da maturação, independentemente do extrato e do método usado para a determinação da atividade antioxidante.

Tabela 1. Evolução da atividade antioxidante dos extratos de metanol e de acetona, determinada pelos métodos do ABTS e DPPH, para os três frutos estudados.

Fruto	Data de Colheita	Capacidade Antioxidante (mmol trolox/ g)			
		ABTS		DPPH	
		Extrato Metanol	Extrato Acetona	Extrato Metanol	Extrato Acetona
Framboesa	03 Jun	2,70	0,38	0,32	0,25
	10 Jun	2,40	0,50	0,35	0,30
	17 Jun	4,19	0,43	0,43	0,24
	24 Jun	2,49	0,28	0,31	0,17
	01 Jul	2,92	0,32	0,33	0,20
	08 Jul	2,67	0,35	0,32	0,20
Groselha	03 Jun	5,44	0,45	0,59	0,43
	10 Jun	2,33	0,54	0,32	0,33
	17 Jun	3,34	0,51	0,49	0,30
	24 Jun	2,55	0,40	0,32	0,23
	01 Jul	2,67	0,39	0,39	0,22
	08 Jul	2,27	0,40	0,30	0,21
Mirtilo	03 Jun	3,72	0,20	0,31	0,12
	10 Jun	4,00	0,21	0,32	0,13
	17 Jun	4,21	0,24	0,35	0,14
	24 Jun	4,90	0,30	0,37	0,23
	01 Jul	4,90	0,22	0,33	0,16
	08 Jul	5,77	0,24	0,40	0,14

No caso da framboesa, os valores de atividade antioxidante no final da maturação eram semelhantes ao início da maturação. Em geral, os valores de atividade antioxidante dos extratos de groselha diminuíram 50 % ao longo da maturação. Pelo contrário, os extratos de mirtilo apresentavam valores mais elevados (17 a 55 %) quando comparados com o início do período de maturação. Comparando os três frutos estudados, no final da maturação, a capacidade antioxidante do mirtilo, pelo método de ABTS no total dos extratos, foi superior à capacidade antioxidante da framboesa e da groselha. No caso do método do DPPH, a capacidade antioxidante quantificada nos 2 extratos analisados e para os três frutos estudados foi similar ao longo dos processo de maturação..

A figura 2 mostra a evolução do teor em taninos totais e em antocianinas ao longo da maturação para os três frutos estudados.

A quantidade de taninos totais presentes no mirtilo variou entre 0,96 e 1,38 mg/g, na groselha entre 0,48 e 1,19 mg/g e na framboesa entre 0,16 – 1,18 mg/g. No final da maturação, os frutos apresentaram valores diferentes, sendo que, os valores mais elevados foram obtidos no mirtilo. Relativamente à evolução das antocianinas ao longo da maturação dos frutos, verificou-se que o mirtilo obteve sempre os valores mais elevados (0,52 – 0,78 mg/g EMvG), seguido da framboesa (0,10 – 0,40 mg/g EMvG) e da groselha (0,02 – 0,19 mg/g EMvG). No final da maturação, o teor em antocianinas totais quantificadas no mirtilo foi de 0,78 mg/g EMvG, cerca de quatro vezes mais do que nos outros frutos. Este valor era semelhante ao descrito por Pertuzatti *et al.* (2007) (0,81 mg/g EMvG) para a variedade de mirtilo Powder *Delite*, em condições similares.

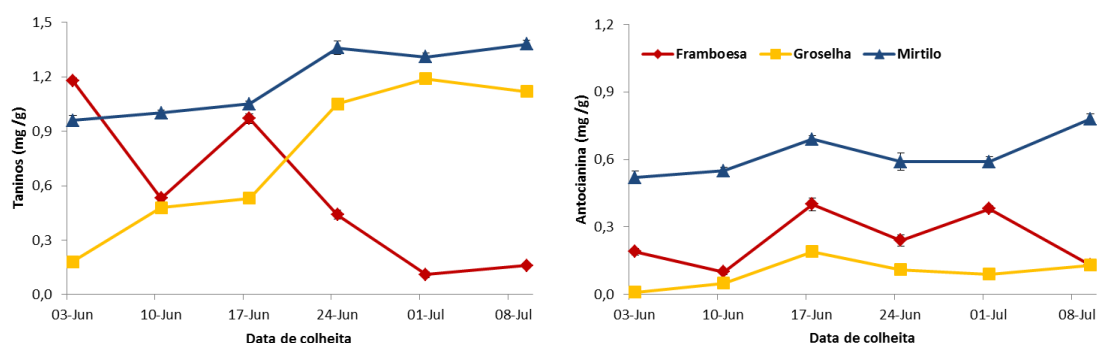


Figura 2. Evolução do teor em taninos totais e em antocianinas totais ao longo da maturação para os três frutos estudados

As antocianinas totais podem apresentar-se na natureza sob a forma monomérica, polimérica e co-pigmentada. A tabela 2 mostra a evolução percentual destas formas nos frutos estudados.

Tabela 2. Evolução da percentagem das formas monoméricas, poliméricas e co-pigmentadas das antocianinas para os três frutos estudados.

% Formas	Framboesa					
	03 Jun	10 Jun	17 Jun	24 Jun	01 Jul	08 Jul
monoméricas	63	41	50	49	34	18
poliméricas	10	10	8	7	4	15
co-pigmentadas	27	49	42	44	62	67
% Formas	Groselha					
	03 Jun	10 Jun	17 Jun	24 Jun	01 Jul	08 Jul
monoméricas	93	80	64	48	15	16
poliméricas	2	4	5	6	12	17
co-pigmentadas	5	16	31	47	73	67
% Formas	Mirtilo					
	03 Jun	10 Jun	17 Jun	24 Jun	01 Jul	08 Jul
monoméricas	94	73	62	68	59	48
poliméricas	6	12	15	13	11	6
co-pigmentadas	0	15	24	19	31	46

Em geral, observou-se um aumento da percentagem relativa das formas co-pigmentadas e uma diminuição das formas monoméricas. Na framboesa, no final da maturação, cerca de 65% das formas eram co-pigmentadas e 20% eram monoméricas. Na groselha, no início da maturação, as formas monoméricas representavam 93% decrescendo para 16% no final da maturação. No mirtilo ocorreu uma diminuição das formas monoméricas, no entanto, menos pronunciada do que nos outros frutos, ou seja, de 94% no início para 48% no fim da maturação.

Conclusões

Os compostos fenólicos totais de todos os frutos diminuíram ao longo da sua maturação nos dois extratos estudados, sendo que no extrato de metanol os seus teores foram mais elevados do que no

extrato de acetona. O mirtilo foi fruto que apresentava à maturação o teor mais elevado de compostos fenólicos totais.

Relativamente à capacidade antioxidante, os valores obtidos para os três frutos em estudos foram semelhantes quando determinados pelo método de DPPH. Pelo método de ABTS foi no mirtilo que se observou maior atividade antioxidante;

Os teores em taninos totais e antocianinas totais no mirtilo e na groselha aumentaram ao longo da maturação, enquanto que na framboesa diminuíram. No final da maturação, o mirtilo continha valores superiores de taninos e antocianinas totais;

Agradecimentos

À Empresa Vasco Pinto & Agostinho Sousa, Lda. pelo fornecimento das amostras.

À Fundação para a Ciência e Tecnologia (FCT) e ao Centro de Investigação CI&DETS (PEst-OE/CED/UI4016/2011).

Bibliografia

- Boulton, R. (2001). The copigmentation of anthocyanins and its role in the color of red wine: A critical review. *American Journal of Enology and Viticulture* **52**(2), 67-87.
- Brand-Williams, W.; Cuvelier, M. E.; Berset, C. (1995). Use of a free radical method to evaluate antioxidant activity. *LWT - Food Science and Technology* **28**(1), 25-30.
- Koca, I.; Karadeniz, B. (2009) Antioxidant properties of blackberry and blueberry fruits grown in the Black Sea Region of Turkey. *Scientia Horticulturae* **121**, 447-450.
- Kuskoski, E. M.; Asuero, A.G.; Morales, M. T.; Fett, R. (2006) Wild fruits and pulps of frozen fruits: antioxidant activity, polyphenols and anthocyanins. *Ciência Rural* **36**, 4, 1283-1287.
- Mazza, G.; Fukumoto, L.; Delaquis, P.; Girard, B.; Ewert, B. (1999) Anthocyanins, phenolics and color of Cabernet Franc, Merlot and Pinot Noir wines from British Columbia. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* **47**, 10, 4009-4017.
- Miller, N. J.; Riceevans, C.; Davies, M. J.; Gopinathan, V.; Milner, A. (1993). A novel method for measuring antioxidant capacity and its application to monitoring the antioxidant status in premature neonates. *Clinical Science* **84**(4), 407-412.
- Mullen, W.; McGinn, J. (2002) Ellagitannins, Flavonoids, and Other Phenolics in Red Raspberries and Their Contribution to Antioxidant Capacity and Vasorelaxation Properties. *Journal of the Agricultural and Food Chemistry* **50**, 18, 5191-5196.
- Pantelidis, G. E.; Vasilakakis, M.; Manganaris, G.A.; Diamantidis, G. (2007) Antioxidant capacity, phenol, anthocyanin and ascorbic acid contents in raspberries, blackberries, red currants, gooseberries and Cornelian cherries. *Food Chemistry* **102**, 777-783.
- Pertuzatti PB, Jacques AC, Zambiasi RC (2007) Relação de Fitoquímicos na casca e polpa de mirtilo (*Vaccinium ashei* Reade). XVI Congresso de Iniciação Científica. Faculdade de Agronomia Eliseu Maciel.
- Ribereau-Gayon, P.; Stonestreet, E. (1966). Dosage des tanins du vin rouge et détermination de leur structure. *Chimie Analytique* **48**, 188-196.
- Singleton, V. L.; Rossi, A. (1965). Colorimetric of total phenolics with phosphomolybdic-phosphotungstic acid reagents. *American Journal of Enology and Viticulture* **16**, 144-158.
- Sousa, M. B.; Curado, T.; Negrão e Vasconcellos, F.; Trigo, M. J. (2007) Mirtilo: Qualidade Pós-Colheita. Edição no âmbito do Projeto PO AGRO DE&D N° 556. Folhas de divulgação AGRO 556 n° 8. MADRP, Lisboa, Novembro.
- Soutinho, S. M. A. (2012) Avaliação dos compostos fenólicos e da actividade antioxidante de frutos vermelhos produzidos em modo biológico. Dissertação de Mestrado em Qualidade e Tecnologia Alimentar, ESAV-IV, Viseu, Portugal.
- Sun, J.; Chu, Y.-F.; Wu, X.; Liu, R. H. (2002) Antioxidant and antiproliferative activities of common fruits. *Journal of the Agricultural and Food Chemistry* **50**, 7449-7454.