

## COMPOSTOS FENÓLICOS EM AMORA-PRETA (*Rubus spp.*) cv. TUPY EM DIFERENTES ESTÁDIOS DE MATURAÇÃO

**RUTZ, Josiane Kuhn<sup>1</sup>; VOSS, Glenise Bierhalz<sup>2</sup>; ZAMBIAZI, Rui Carlos<sup>3</sup>.**

<sup>1</sup>Curso de Pós Graduação em Ciência e Tecnologia Agroindustrial, Universidade Federal de Pelotas, Pelotas, Rio Grande do Sul

*josianekr@gmail.com; zambiasi@gmail.com*

<sup>2</sup>Departamento de Engenharia Química e Engenharia de Alimentos, Centro de Engenharia, Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis, Santa Catarina.

<sup>3</sup> Centro de Ciências Químicas, Farmacêuticas e de Alimentos, UFPel, Pelotas, RS

### 1. INTRODUÇÃO

A amoreira-preta (*Rubus spp.*) é uma planta rústica, que apresenta frutos de qualidade nutricional e valor econômico significativo, cujo cultivo vem crescendo em diversas regiões do Brasil. Esta é uma espécie arbustiva de porte ereto ou rasteiro, que produz frutos agregados, com cerca de 4 a 7 gramas, de coloração negra e sabor ácido a doce-ácido (ANTUNES, 2002). Na forma *in natura* esta fruta é altamente nutritiva, contendo aproximadamente 85% de água, 10% de carboidratos, com elevado conteúdo de minerais, vitaminas B, vitamina A e cálcio, além de ser rica em compostos bioativos, que são oriundos de metabólicos secundários, como carotenóides, vitaminas, tocoferóis e principalmente de compostos de natureza fenólica, denominados de polifenóis (MOTA, 2006).

Os compostos fenólicos pertencem a uma classe de substâncias químicas quem incluem uma grande diversidade de estruturas, simples e complexas, derivadas da fenilalanina e da tirosina, que possuem em sua estrutura pelo menos um anel aromático com um ou mais grupamentos hidroxilas (NACZK e SHAHIDI, 2004). Esta classe de compostos pode ser dividida em flavonóides (antocianinas, flavonóis, flavanóis e isoflavonas) e não flavonóides (ácidos fenólicos) (ANGELO; JORGE, 2007; SIRIWOHARN *et al.*, 2004; KING; YOUNG, 1999).

Dentre os compostos fenólicos bioativos pertencentes aos vegetais são encontradas estruturas variadas, como os ácidos fenólicos, derivados da cumarina, taninos e flavonóides, que podem atuar como agentes redutores, seqüestrantes de radicais livres, quelantes de metais ou desativadores do oxigênio singlete (MELLO e GUERRA, 2002). As frutas, principalmente as que apresentam a coloração vermelha/azul, são as mais importantes fontes de compostos fenólicos em dietas alimentares. Estas cores são características das antocianinas, que são pertencentes a classe dos flavonóides, que por sua vez fazem parte dos compostos fenólicos. Muitos destes compostos apresentam uma gama de efeitos biológicos, incluindo ação antioxidante, antimicrobiana, anti-inflamatória e vasodilatadora (DEGÁSPARI; WASZCZYNSKY, 2004).

Devido ao fato da amoreira-preta ser rica nesta classe de compostos tem-se como objetivo a identificação e quantificação dos compostos fenólicos individuais presentes na fruta em diferentes estádios de maturação.

### 2. MATERIAL E MÉTODOS

Foram utilizadas frutas "in natura" de amoreira-preta (*Rubus spp.*), da cultivar Tupy, da safra 2008/2009, provenientes de uma propriedade localizada na cidade de Morro Redondo/RS/Brasil. As amostras foram colhidas em diferentes estádios de maturação, apresentando 4,5<sup>o</sup> Brix a amostra denominada imatura, 5,5<sup>o</sup> Brix a amostra intermediária e 7,0<sup>o</sup> Brix a amostra madura. As amostras foram

colocadas em sacos plásticos, que foram acondicionados em caixas de isopor contendo gelo, e transportadas ao Laboratório de Cromatografia da Universidade Federal de Pelotas, sendo analisados imediatamente quanto ao seu teor de compostos fenólicos individuais.

#### *Identificação e quantificação de compostos fenólicos*

A extração dos compostos fenólicos da polpa das frutas foi realizada segundo o método descrito por Häkkinen, Karenlampi e Heinonen (1998), com adaptações. Cinco gramas da amostra macerada foram dissolvidas em 30mL de metanol e após foi adicionado 4,9mL de ácido clorídrico p.a. O extrato foi homogeneizado em banho de água à 35°C, na ausência de luz por 24 horas. Após este período, a mistura foi filtrada e o sobrenadante foi concentrado em rotaevaporador a 40°C por cerca de 30 minutos. O resíduo concentrado foi redissolvido em metanol até o volume final de 5mL, o qual foi centrifugado (7.000 rpm por 10 minutos). Retirou-se uma alíquota do sobrenadante (30µL) para injetar no cromatógrafo.

Utilizou-se um cromatógrafo de líquidos de alta eficiência (CLAE) Shimadzu, com injetor automático, detector UV-visível a 280nm, coluna de fase reversa RP-18 CLC-ODS (5µm, 4,6mm x 150mm) com fase estacionária octadecil e uma coluna de guarda CLC-GODS (4) com fase estacionária de superfície octadecil, ambas pré acondicionadas a 25°C. A fase móvel em gradiente de eluição, consistiu de uma solução aquosa de ácido acético (99:1, v/v) e metanol (Tabela 1), com fluxo de 0,8mL/ min, com um tempo total de corrida de 45 minutos, segundo metodologia descrita por Zambiasi (1997).

Tabela 1 - Programa do gradiente de eluição utilizado na separação de compostos fenólicos em amora-preta cv. Tupy

Tempo (minutos)	Solvente A* (%)	Solvente B** (%)
0	100	0
25	60	40
27	60	40
37	95	5
42	95	5
45	100	0

\*Solvente A: solução aquosa de ácido acético (99:1, v/v);

\*\*Solvente B: metanol.

Os compostos fenólicos individuais foram identificados e quantificados com base da curva de calibração de padrões, os quais foram dissolvidos em metanol, incluindo o ácido p-coumárico, ácido cafeico, quercetina, ácido ferúlico, epicatequina, ácido p-hidroxibenzoico, ácido gálico, ácido elágico, catequina, miricetina e kaempferol. Os resultados foram expressos em mg do composto fenólico.100g<sup>-1</sup> fruta fresca.

Os dados foram analisados por análise de variância (P <0,05) e separados por testes de médias (Tukey). Análise estatística foi realizada utilizando o software STATISTICA 7.0.

### **3. RESULTADOS E DISCUSSÕES**

O ácido gálico, ácido hidroxibenzoico, catequina, ácido cafeico, epicatequina, ácido ferúlico, ácido elágico e quercetina foram os compostos fenólicos separados e identificados por cromatografia líquida de alta eficiência,

utilizando como meio de separação uma coluna de fase reversa. Alguns destes compostos podem ser visualizados no cromatograma representado na Figura 1.

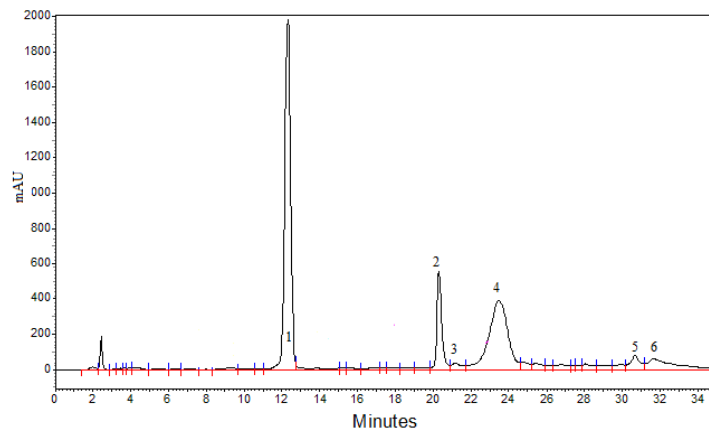


Figura 1 – Cromatograma típico de compostos fenólicos em amora-preta cv. Tupy. CLAE com coluna em fase reversa e detector UV (280 nm). 1: ácido gálico, 2: ácido hidroxibenzóico, 3: catequina, 4: epicatequina, 5: ácido elágico, 6: quercetina. Fase móvel: gradiente de ácido acético em água (1:99 v/v) e metanol com fluxo de 0,9mL/min.

Na tabela 2 podem ser observados os resultados obtidos através da quantificação dos compostos fenólicos da amora-preta nos diferentes estádios de maturação.

Tabela 2 - Compostos fenólicos presentes na amora-preta cv. Tupy em diferentes estádios de maturação

Estádio de Maturação	Compostos Fenólicos Individuais (mg.100g <sup>-1</sup> )								Total
	Ácido Gálico	Ácido Hidroxibenzóico	Catequina	Ácido Caféico	Épicatequina	Ácido ferúlico	Ácido Elágico	Quercetina	
Imatura	75,47 ± 0,95 <sup>c</sup>	40,97 ± 0,52 <sup>c</sup>	35,65 ± 0,46 <sup>a</sup>	18,75 ± 0,24 <sup>a</sup>	206,23 ± 2,59 <sup>c</sup>	0,00 <sup>c</sup>	ND <sup>b</sup>	0,484 ± 0,006 <sup>a</sup>	377,55 ± 0,80 <sup>c</sup>
Intermediária	118,97 ± 1,65 <sup>b</sup>	52,60 ± 0,73 <sup>b</sup>	22,05 ± 0,31 <sup>b</sup>	1,17 ± 0,02 <sup>b</sup>	377,78 ± 5,26 <sup>b</sup>	1,00 ± 0,014 <sup>b</sup>	ND <sup>b</sup>	ND <sup>b</sup>	573,57 ± 1,33 <sup>b</sup>
Madura	144,30 ± 1,09 <sup>a</sup>	62,70 ± 0,47 <sup>a</sup>	19,08 ± 0,14 <sup>c</sup>	ND <sup>c</sup>	466,22 ± 3,51 <sup>a</sup>	0,197 ± 0,001 <sup>a</sup>	3,811 ± 0,029 <sup>a</sup>	ND <sup>b</sup>	696,31 ± 0,87 <sup>a</sup>

ND = Não detectado.

Durante o amadurecimento dos frutos, muitos compostos fenólicos são sintetizados, podendo alguns destes ser polimerizados, acarretando assim uma diminuição na adstringência dos frutos (CHITARRA; CHITARRA, 2005). No presente estudo, com o decorrer da maturação observou-se um acréscimo no teor de ácido gálico, ácido hidroxibenzóico, epicatequina e do ácido elágico. Observou-se um decréscimo no teor de catequina, ácido caféico e quercetina. Estes resultados se assemelham aos relatados por Azevedo (2011) para amora-preta em diferentes estádios de maturação; no entanto, este autor identificou o ácido p-cumárico, que não foi identificado no presente estudo, e não identificou a quercetina, encontrada nos frutos neste estudo.

A epicatequina foi o composto fenólico predominante, dentre os compostos fenólicos analisados, diferindo dos resultados reportados por Jacques (2009), onde o ácido gálico foi o ácido fenólico majoritário encontrado na amora-preta. Azevedo (2011) também relata ter encontrado a epicatequina como o composto

fenólico majoritário (444,94 mg.100g<sup>-1</sup> no estágio mais avançado de maturação), sendo o resultado semelhante ao obtido no presente estudo (466,22mg.100g<sup>-1</sup>).

Em relação ao somatório de todos os compostos, Azevedo (2011) obteve como resultado 811,21mg.100g<sup>-1</sup> de fruta para o estágio mais avançado de maturação, resultado este superior ao encontrado no presente estudo, que foi de 696,31 mg.100g<sup>-1</sup>. Já ao comparar com o valor relatado por Jacques (2009), que foi de 541,01 mg.100g<sup>-1</sup>, o obtido no presente estudo demonstrou-se superior.

#### 4. CONCLUSÕES

Concluiu-se que durante a maturação há um decréscimo nos teores de catequina, ácido caféico e quercetina, enquanto há um acréscimo no teor de ácido gálico, ácido hidroxibenzóico, epicatequina e do ácido elágico, e por consequência, dos compostos fenólicos totais, visto que a epicatequina é o composto fenólico majoritário presente na amora-preta analisada neste estudo.

Os resultados obtidos com este estudo, quando comparados com os estudos semelhantes, evidenciam as diferenças que podem ocorrer na composição de frutos de uma mesma cultivar que foram cultivados diferentes safras e áreas de cultivo.

#### 5. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ANGELO, P. M.; JORGE, J. Compostos fenólicos em alimentos – Uma breve revisão. **Revista Instituto Adolfo Lutz**, v. 66, n. 1, p. 232-240, 2007.
- ANTUNES, L. E. C. Amora-preta: nova opção de cultivo no Brasil. **Ciência Rural**, v.32, n.1, p.151-158, 2002.
- AZEVEDO, M. L. **Perfil fitoquímico, atividades antioxidante e antimicrobiana de amora-preta (*Rubus fruticosus*) cv. Tupy em diferentes estádios de maturação cultivada em clima temperado**. 2011. 75f. Tese (Doutorado em Ciência e Tecnologia Agroindustrial) - Faculdade de Agronomia, Universidade Federal de Pelotas, Pelotas.
- CHITARRA, M. A. F.; CHITARRA, A. B. **Pós-colheita de frutas e hortaliças: fisiologia e manuseio**. 2.ed. rev. e ampl. Lavras: UFLA, 2005. 785p.
- DEGÁSPARI, C.H.; WASZCZYNSKYJ, N. Propriedades antioxidantes de compostos fenólicos. **Visão Acadêmica**, v.5, n.1, p.33-40, 2004.
- HÄKKINEN, S. H.; KÄRENLAMPI, S. O.; HEINONEN, M.; et al. HPLC Method for Screening of Flavonoids and Phenolic Acids in Berries. **Journal Science Food Agricultural**, v.77, p. 543-551, 1998.
- MELLO e GUERRA, 2002.
- JACQUES, A. C. **Estabilidade de compostos bioativos em polpa congelada de amora-preta (*rubus fruticosus*) cv.tupy**. 2009. 60f. Dissertação (Mestrado em Ciência e Tecnologia Agroindustrial) - Faculdade de Agronomia, Universidade Federal de Pelotas, Pelotas.
- KING, A. R.D.; YOUNG, G. E.de D. Characteristics and occurrence of Phenolic phytochemicals. **Journal of American Dietetic Association**, v. 99, n. 2, p. 213 218, 1999.
- MELLO, E.A.; GUERRA, N.B. Ação antioxidante de compostos fenólicos naturalmente presentes em alimentos. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v.36, n.1, p.1-11, 2002.
- MOTA, R.V. Caracterização física e química de geléia de amora-preta. **Ciência Tecnologia Alimentos**, v.26, n.3, p.539-543, 2006.
- NACZK, M.; SHAHIDI, F. Extraction and Analysis of Phenolics in Food (Review). **Journal of Chromatography A**, n.1054, p.95-111, 2004. In: berry extracts: an evaluation by the ORAC-pyrogallol red methodology. **Food chem.**, v.113, p.331-335, 2004.
- SIRIWOHARN, T.; WROLSTAD, R. E.; FINN, C. E.; PERERIRA, C. B. Influence of cultivar, maturity, and sampling on Blackberry (*Rubus L. Hybrids*) anthocyanins, polyphenolics, and antioxidant properties. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v.52, p.8021-8030, 2004.
- ZAMBIAZI, R.C. **The role of endogenous lipid components on vegetable oil stability**. 1997. 304f. Tese (Doutorado em Foods and Nutritional)-Sciences Interdepartamental Program. University of Manitoba Winnipeg, Manitoba, Canada.
- TOSUN, I.; USTUN, S.; TEKGULER. Physical and chemical changes during ripening of blackberry fruits. **Scientia Agricola**, v.65, n.1, p.87-90, 2008.