

Área: Ciência de Alimentos

DETERMINAÇÃO DE COMPOSTOS FENOLICOS POR DIFERENTES SOLVENTES DE EXTRAÇÃO EM POLPA DE MIRTILO.

Alisson Luiz Pagnussatt*, Maurício Seifert, Renata Silva Moura, Débora Oliveira da Silva, Júlia Borin Fioravante, Simone Valiati, Leonardo Nora.

Laboratório de Fisiologia Pós-Colheita de Frutas e Hortaliças - Metabolismo Secundário, Curso de Pós Graduação em Ciência e Tecnologia de Alimentos, Faculdade de Agronomia Eliseu Maciel, Universidade Federal de Pelotas, Pelotas, RS.

*E-mail: alissonpagnussatt@bol.com.br

RESUMO - O Mirtilo (*Vaccinium sp.*) é uma fruta de pequeno porte, coloração roxa, consistência firme, sabor agridoce que contem uma expressiva quantidade de extratos fenólicos e conseqüentemente uma grande atividade antioxidante que combate a ação dos radicais livres presentes no organismo. Neste trabalho o objetivo é qualificar o teor de compostos fenólicos totais por diferentes solventes utilizados na extração. Os mirtilos cv. Clímax, são oriundos do município de Pelotas-RS da safra 2012/2013, elaborou-se a polpa com frutos da cv. Clímax, provenientes do município de Pelotas, RS, Brasil, os frutos foram adicionados de 25% de água, 0,1% de xantana e 0,08% de ácido cítrico, sendo estes previamente desintegrados e tratados termicamente em tacho aberto até atingir-se a temperatura de 95°C. Após, os frutos foram despulpados em despulpadeira de estágio simples (malha 0,1mm) por 2,5 minutos, após a mesma foi armazenada a uma temperatura de -20°C até o momento das análises. Foram utilizados diferentes solventes na extração de compostos fenólicos das amostras de Mirtilo: Metanol, etanol, metanol + acetona e acetona 80%. Os compostos fenólicos foram determinados pelo método de espectrofotometria, e expresso em mg de ácido gálico equivalente por grama de fruto. Os resultados encontrados se diferiram entre os solventes utilizados a p<0,05 pelo teste de Tukey, sendo a acetona o solvente que obteve maior resultado.

Palavras chave: Climax, solvente, extração.

1 INTRODUÇÃO

Atualmente o uso de alimentos está deixando de lado somente o aspecto nutritivo, cada vez mais tem-se buscado alimentos que auxiliam no tratamento e prevenção de doenças. Estudos direcionados têm atribuído papel de suma importância aos radicais livres como grandes responsáveis por doenças degenerativas associadas o envelhecimento, câncer, doenças cardiovasculares, declínio do sistema imunológico, disfunções cerebrais, entre outras. A produção de radicais livres no organismo dos seres vivos é controlada por diversos compostos antioxidantes, os quais podem ter origem endógena ou serem obtidos através da dieta alimentar e outras fontes. (SCHNEIDER & OLIVEIRA, 2004)

Radicais livres são moléculas presentes no organismo, são originados nos processos metabólicos que necessitam oxigênio, como a respiração. Estes radicais possuem um número ímpar de elétrons na sua órbita externa. Outros fatores estão diretamente relacionados na formação destes radicais, tais como: cigarro, drogas, álcool, hipertensão arterial, exercícios físicos forçados em pessoas sem condicionamento adequado, alimentação inadequada, entre outros. (FERREIRA & MATSUBARA, 1997)

O Mirtilo (*Vaccinium sp.*) é uma fruta de pequeno porte, coloração roxa, consistência firme, sabor agridoce, também é encontrado em forma de geleias, iogurtes, tortas, licores, cereais, entre outros. Originária da Europa e América do Norte foi introduzida no sul do Brasil na década de 80 através da EMBRAPA Clima Temperado, que devido ao seu desenvolvimento ser em regiões frias encontrou nas serras do Rio Grande do Sul e em países como Argentina, Uruguai e Chile um local ideal para o seu cultivo, visto que, apesar de serem regiões altas e frias o ano inteiro, possuem solo muito fértil e boa distribuição pluviométrica o ano inteiro. (SILVA; ANTUNES, ANTHONISEN; LEMÕES & GONÇALVES), (VIZZOTTO & PERREIRA, 2009).

Aos poucos o Mirtilo vem ganhando espaço na culinária brasileira, muito conhecido internacionalmente devido as suas muitas propriedades medicinais este está sendo apontado como sinônimo de saúde e sofisticação. Seu consumo *in natura*, ou em forma de suco é o mais recomendado para que sejam extraídas ao máximo suas propriedades, já que é rico em vitaminas A, B, C, possuindo ainda sais minerais, potássio, magnésio, cálcio, fósforo, ferro, manganês, pectina, ácido cítrico, dentre os fotoquímicos presentes nesta fruta os compostos fenólicos merecem destaque devido a sua atividade oxidante, é a fruta que está no topo em teores de antioxidante, ultrapassando outros vegetais como repolhos, espinafres e brócolos (PRISCILLA, 2012).

A presença de um grande número de ácidos fenólicos no Mirtilo já foi relatada na literatura (TARUSCIO et al., 2004; ZADERNOWSKI, NACZK e NESTEROWICZ, 2005). Estes compostos caracterizam-se por um anel benzênico, grupamento carboxílico, e um ou mais grupamentos hidroxila e/ou metoxila na molécula (NATELLA et al., 1999).

Antioxidantes são substâncias de carga positiva encontrados principalmente em vitaminas A, B, C, licopeno, carotenoides, flavonoides, B-caroteno e que atuam contra danos causados no tecido animal através do processo fisiológico de oxidação. Eles neutralizam a ação dos radicais livres bloqueando o processo oxidativo. (SOARES, 2002).

O objetivo do trabalho foi qualificar o teor de compostos fenólicos totais por diferentes solventes utilizados na extração em amostras de polpa de Mirtilo da cultivar clímax.

2 MATERIAIS E MÉTODOS

O trabalho foi realizado no Departamento de Ciência e Tecnologia Agroindustrial da Faculdade de Agronomia Eliseu Maciel da Universidade Federal de Pelotas, RS. Os mirtilos cv. Clímax, são oriundos do município de Pelotas-RS da safra 2012/2013, Elaborou-se a polpa com frutos da cv. Clímax, provenientes do município de Pelotas, RS, Brasil, os frutos foram adicionados de 25% de água, 0,1% de xantana e 0,08% de ácido cítrico, sendo estes previamente desintegrados e tratados termicamente em tacho aberto até atingir-se a temperatura de 95°C. Após, os frutos foram despulpados em despulpadeira de estágio simples (malha 0,1mm) por 2,5 minutos, após a mesma foi armazenada a uma temperatura de -20°C até o momento das análises (KUCK, 2012).

Foram utilizados diferentes solventes na extração de compostos fenólicos das amostras de Mirtilo: Metanol, etanol, metanol + acetona e acetona 80%. Os compostos fenólicos foram determinados pelo método de espectrofotometria segundo SINGLETON & ROSSI (1965), e expresso em mg de ácido gálico equivalente por grama de fruto.

Nos dados foram analisados por meio do pacote estatístico SAS/Stat 9.2.2®, utilizando-se o teste de Tukey para análise de variância entre as médias, considerando diferença significativa quando $p \leq 0,05$.

3 RESULTADO E DISCUSSÃO

Tabela 1: Avaliação compostos fenolicos totais (mg AG. 100 g⁻¹ de fruta), em polpa de mirtilo do cultivar Climax, em quatro diferentes extratos (acetona, etanol, metanol, metanol +acetona) FAEM/UFPel, Capão do Leão-RS, 2013.

SOLVENTES	COMPOSTOS FENOLICOS TOTAIS
Acetona	140,76 a*
Metanol	104,16 b
Metanol / Acetona	98,46 bc
Etanol	83,77 c

*Médias acompanhadas por letra diferente na coluna diferem entre si pelo teste de Tukey ($p \leq 0,05$) comparando os diferentes solventes.

Na tabela 1 podemos observar que dentre os solventes utilizados o solvente com maior extração dos compostos fenolicos da polpa de mirtilo foi a acetona com valor de 140,76 mg AG. 100 g⁻¹ de fruta, nao tendo diferença significativa entre os solventes metanol e metanol+acetona. Sendo o menor valor encontrado foi no extrato realizado com etanol (83,77 mg AG. 100 g⁻¹ de fruta).

Em estudos realizados por Rodrigues, 2010, com diferentes cultivares de Mirtilo encontrou valores semelhantes aopresente estudo. Rodrigues, (2009), estudando diversas cultivares de Mirtilo incluindo a cultivar climax avaliada neste estudo, obteve teores de compostos fenólicos variando de 65,38 a 155,12 mg. 100g⁻¹ de compostos fenólicos em bluecrop e powderblue respectivamente. A cultivar climax obteve um valor de 76,24 mg. 100g⁻¹, valor este bem abaixo do encontrado utilizando acetona como solvente de extração, ficando aproximado do valor encontrado com etanol utilizado na extração.

Os melhores resultados atribuidos a acetona se da ao fato de que os compostos fenólicos apresentam polaridade intermediária, enquanto que o etanol e o metanol extraem compostos mais polares. A eficiência dos solventes estudados para extração de compostos fenólicos apresentou a seguinte ordem: acetona>metanol=metanol/acetona>etanol. Estes resultados estão de acordo com outros autores, os quais sugerem que solventes com alta polaridade, como a água, e solventes com polaridade muito baixas, ou apolares, não são bons extratores (LIU et al., 2000, CHIRINOS et al., 2006). Desta forma, os compostos fenólicos do mirtilo parecem apresentar características moderadamente polares. O metanol é bastante utilizado para extração de compostos fenólicos com eficiência (TSAO e DENG, 2004; SHI et al., 2005).

4 CONCLUSÃO

Conclui-se que qualificar o teor de compostos fenólicos totais por diferentes solventes utilizados na extração em amostras de polpa de Mirtilo da cultivar climax que todos os solventes utilizadas não apresentaram

diferenças significativas, sendo o solvente que obteve maior valor no teor de compostos fenólicos totais foi o etanol. Assim podemos afirmar que qualquer um dos solventes utilizados no estudo podem ser utilizados para extração de compostos fenólicos em mirtilo.

5 AGRADECIMENTOS

À Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior, CAPES, e a Fundação de Amparo a Pesquisado Estado do Rio Grande do Sul, FAPERGS, pelo apoio financeiro.

Agradeço ao Laboratório de Fisiologia Pós-Colheita de Frutas e Hortaliças - Metabolismo Secundário, ao programa de Pós Graduação em Ciência e Tecnologia de Alimentos pelo estágio PEC (programa de educação complementar).

Aos doutorandos e mestrandos dos programas que me auxiliam em minhas atividades.

6 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

CHIRINOS, R.; ROGEZ, H.; CAMPOS, D.; PEDRESCHI, R.; LARONDELLE, Y. Optimization of extraction conditions of antioxidant phenolic compounds from mashua (*Tropaeolum tuberosum* Ruíz & Pavon) Tubers. **Separation and Purification Technology**, Amsterdam, v. 55, p. 217-225, 2006.

.FERREIRA, A.L.A.; MATSUBARA, L.S. Radicais livres: conceitos, doenças relacionadas, sistema de defesa e estresse oxidativo. *Revista Associação Médica Brasileira*, vol.43 n.1 São Paulo Jan./Mar. 1997.

KUCK, L. S. Desenvolvimento de polpa de mirtilo (*Vaccinium ashei* Reade) e preservação das suas antocianinas para elaboração em alimentos. 2012. 127f. Dissertação (Mestrado em Ciência e Tecnologia Agroindustrial) ó Faculdade de Agronomia Eliseu Maciel, Universidade Federal de Pelotas, Pelotas

LIU, F.F.; ANG, C.Y.W.; SPRINGER, D. Optimization of extraction conditions for active components in *Hypericum perforatum* Using Surface methodology. **Journal of Agriculture and Food Chemistry**. Washington, v. 48, p. 3364-3371, 2000

.NATELLA, F.; NARDINI, M.; DI FELICE, M; SCACCINI, C. Benzoic and cinnamic acid derivatives as antioxidants: structure-activity relation. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 47, p. 1453 ó 1459, 1999.

PRISCILLA, M. R.; Frutos de Mirtilo (*Vaccinium ssp*) e Produtos Derivados: Caracterização e Estabilidade de Suas Propriedades Bioativas. **Tese**: Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciência e Tecnologia de Alimentos como requisito parcial para a obtenção do grau de Mestre em Ciência e Tecnologia de Alimentos, 2012.

RODRIGUES, E.. Atividade Antioxidante *in vitro* e Perfil Fenólico de Cultivares de Mirtilo (*Vaccinum sp.*) Produzidos no Brasil. **Dissertação**: Apresentada ao Programa de Pós Graduação em Ciência de Alimento do Centro de Ciência Agrárias da Universidade Federal de Santa Catarina, como requisito final para obtenção do título de Mestre em Ciências dos Alimentos. Florianópolis 2009.

RODRIGUES, S. A., Estabilidade de Antocianinas, Fenóis Totais e Capacidade Antioxidante em *Topping* de Mirtilo. **Tese:** Apresentada ao PPGCTA da Universidade Federal de Pelotas, como requisito parcial à obtenção ao título de Doutora em Ciência de Alimentos. Pelotas, R.S., 2010.

SCHNEIDER, C. D.; OLIVEIRA, A. R.; Radicais livres de oxigênio e exercício: mecanismos de formação e adaptação ao treinamento físico. **Revista Brasileira de Medicina no Esporte** _ Vol. 10, Nº 4 ó Jul/Ago, 2004.

SHI, J.; NAWAZ, H.; POHORLY, J.; MITTAL, G.; KAKUDA, I.; JIANG, Y. Extraction of polyphenolics from plant material for functional foods - engineering and technology. **Food Reviews International**, New York, v. 21, p. 139-166, 2005.

SILVA, S. D. A.; ANTUNES, L. E. C.; ANTHONISEN, D. G.; LEMÕES, J. S.; GONÇALVES, E. D. Caracterização de Genótipos De Mirtilo Utilizando Marcadores Moleculares. **Revista Brasileira de Fruticultura**, Jaboticabal - SP, v. 30, n. 1, p. 180-184 Março 2008.

SOARES, S. E., Ácidos fenólicos como antioxidantes. **Revista de Nutrição**. vol.15 nº.1 Campinas Jan. 2002.

TARUSCIO, T. G.; BARNEY, D. L.; EXON, J. Content and profile of flavanoid and phenolic acid compounds in conjunction with the antioxidant capacity for a variety of northwest vaccinium berries. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 52, p. 3169 ó 3176, 2004.

TSAO, R.; DENG, Z. Separation procedures for naturally occurring antioxidant phytochemicals. **Journal of Chromatography B**, Amsterdam, v. 812, p. 85-99, 2004.

VIZZOTTO, M., PEREIRA, M. C.; Mirtilo: a fruta da longevidade. **Diário da Manhã**, 25/5/2009.

ZADERNOWSKI, R.; NACZK, M.; NESTEROWICZ, J. Phenolic acid profiles in some small berries. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 53, p. 2118 ó 2124, 2005.