



## COMPOSTOS FENÓLICOS TOTAIS E ATIVIDADE ANTIOXIDANTE EM FRUTAS DE CULTIVARES E SELEÇÕES DE AMOREIRA-PRETA (*Rubus sp.*).

**PEREIRA, Marina Couto<sup>1</sup>; CASTILHO, Paula Madeira<sup>2</sup>; VIZZOTTO Márcia<sup>3</sup>.**

<sup>1</sup>Nutricionista, cursando Técnico em Saneamento Ambiental, Centro Federal de Educação Tecnológica de Pelotas-CEFET, Pelotas, RS. [marinacoutopereira@hotmail.com](mailto:marinacoutopereira@hotmail.com)

<sup>2</sup>Matemática, cursando Técnico em Análise de Processos Industriais Químicos, Centro Federal de Educação Tecnológica de Pelotas - CEFET, Pelotas, RS. [paula\\_castilhors@yahoo.com.br](mailto:paula_castilhors@yahoo.com.br)

<sup>3</sup>PhD, Embrapa Clima Temperado, Pelotas, RS. [vizzotto@cpact.embrapa.br](mailto:vizzotto@cpact.embrapa.br)

### 1. INTRODUÇÃO

O cultivo comercial da amoreira-preta teve início na Europa, no Século XVII, quando a cultivar Evergreen foi selecionada a partir de plantas nativas. Desde então, espalhou-se para diversos países. No Brasil, as primeiras plantas foram introduzidas em 1972, pela Embrapa Clima Temperado, em Pelotas, RS, que iniciou um processo de seleção buscando cultivares adaptadas. No Rio Grande do Sul, a amoreira-preta tem tido satisfatória aceitação pelos produtores, devido ao baixo custo de produção, facilidade de manejo, rusticidade e pouca utilização de defensivos agrícolas (ANTUNES, 2002).

Atualmente, dentre os principais entraves que a cultura da amoreira-preta enfrenta, destaca-se a ausência de cultivares com características de fruta adequadas ao mercado *in natura*, produtivas e que não apresentem espinhos. Esta última é uma característica de grande importância, tanto para a realização da poda, quanto para a colheita e demais tratamentos culturais.

Os fitoquímicos, encontrados naturalmente em frutas e hortaliças, apresentam efeitos benéficos sobre a saúde humana, e muitos destes compostos são encontrados em amora-preta, como os ácidos fenólicos e, também, os flavonóides e seus derivados (SELLAPPAN et al., 2002).

Extratos de amora-preta tem mostrado efeito antimutagênico (TATE, et al., 2006) e anticarcinogênico (SEERAM et al., 2006; DING et al., 2006), além de ajudarem a reduzir os níveis de colesterol no sangue, atuando na prevenção de enfermidades cardiovasculares e circulatórias (STOCLET et al., 2004). Atua ainda na prevenção do diabetes e do mal de Alzheimer (HERTOG et al., 1997; ISHIGE et al., 2001). Levando em conta a potencialidade da amora-preta na manutenção da saúde humana, e a necessidade da pesquisa desenvolver cultivares sem espinhos que produzam frutas de alta qualidade para consumo *in natura*, este trabalho objetivou determinar o teor de compostos fenólicos totais e a atividade antioxidante das frutas produzidas por cultivares e seleções de amoreira-preta com e sem espinhos.

### 2. MATERIAL E MÉTODOS

**Preparo de Amostras:** Frutas de diferentes seleções e cultivares de amoreira-preta (para detalhes olhar tabela 1 e tabela 3) foram coletadas dos campos experimentais da Embrapa Clima Temperado, na safra 2007/2008 e armazenadas em freezer à -18°C até o momento das análises, quando foram homogenizadas por tamanho e cor. Foram realizadas as análises de compostos fenólicos totais e atividade antioxidante, onde utilizou-se 5g de amostra da região equatorial da fruta, em triplicata. Anteriormente, foram trituradas em um moedor do tipo ultraturrax dimensionado para amostras pequenas e centrifugadas em centrífuga refrigerada com temperatura em torno de 4°C a 15.000 rpm.

**Análise de Fenólicos Totais:** A metodologia utilizada para determinação de compostos fenólicos totais foi adaptada de Swain e Hillis (1959). Para cada tubo de ensaio foram pipetados 250µL da amostra, adicionados 4mL de água ultra pura e 250µL do reagente Folin-Ciocalteau (0,25N), agitados e mantidos por 3 minutos para reagir. Adicionou-se 500µL de carbonato de sódio (1N) e, novamente, foram agitados e mantidos por 2 horas para reagir. O espectrofotômetro foi zerado com o controle (branco) e foram feitas as leituras da absorbância no comprimento de onda de 725nm.

**Análise de Atividade Antioxidante:** A metodologia utilizada para determinação da atividade total foi adaptada de Brand-Williams et al (1995). Foram pipetados 200µL da amostra e misturados com 3800µL de DPPH (diluído em metanol) em tubos de 15mL com tampa. Os tubos foram agitados e deixados para reagir por 24 horas. Para a leitura no espectrofotômetro usou-se o metanol para zerar o equipamento e a absorbância foi medida no comprimento de onda de 525nm.

### 3. RESULTADOS E DISCUSSÕES

Algumas das seleções e cultivares analisadas apresentam frutos de qualidade mas, também, apresentam algumas características que dificultam o manejo destas plantas, como a presença de espinhos. Desta forma, para análise dos dados. Os genótipos foram divididas em dois grupos: com e sem espinhos. Dentre os genótipos que apresentam espinhos, as seleções S16/96 e S14/96 e as cultivares Comanche e Guarani apresentaram frutos com os maiores teores de compostos fenólicos totais. Já a atividade antioxidante foi superior nas seleções S16/96 e S03/01 mas não diferindo da cultivar Comanche (Tabela 1).

Tabela 1. Compostos fenólicos totais e atividade antioxidante de seleções e cultivares de amoreira-preta, com espinhos. Embrapa Clima Temperado, Pelotas, RS, 2008.

Seleções/Cultivares	Compostos fenólicos <sup>1</sup>	Atividade antioxidante <sup>2</sup>
S14/96	921.0 ±43.3 ab	10568.5 ±994.9 bc
S16/96	1077.0 ±47.1 a	12604.8 ±898.3 a
S21/96	819.2 ±86.1 bcd	9901.9 ±662.0 bcd
SBlack97	699.9 ±64.9 cd	7090.6 ±148.8 bcd
S787 americana	832.1 ± 108.4 cd	10735.2 ±951.4 e
S03/01	778.2 ±81.9 bcd	10156.8 ±693.7 ab
CHEROKE	660.4 ±10.6 d	8417.3 ±798.4 de
COMANCHE	901.9 ±141.1 abc	10915.5 ±678.2 ab
GUARANI	902.2 ±2.6 abc	10103.5 ±344.6 bcd
TUPY	800.4 ±23.4 bcd	8611.1 ±175.8 cde

Dados são médias de três repetições  $\pm$  desvio padrão. Letras iguais na mesma coluna significa que não diferem entre si pelo teste de Tukey a 0.05%. <sup>1</sup>Compostos fenólicos totais expresso em mg do equivalente ácido clorogênico/100g amostra fresca. <sup>2</sup>Atividade antioxidante total expressa em  $\mu$ g equivalente trolox/g amostra fresca.

Fazendo uma comparação entre as frutas de cultivares e das seleções de amora-preta produzidas em plantas que possuem espinhos, não houve diferença estatística quanto ao teor de compostos fenólicos totais e atividade antioxidante (Tabela 2).

Tabela 2. Compostos fenólicos totais e atividade antioxidante em frutas de cultivares e seleções de amoreira-preta, com espinhos. Embrapa Clima Temperado, Pelotas, RS, 2008.

Com espinhos	Compostos fenólicos <sup>1</sup>	Atividade antioxidante <sup>2</sup>
Cultivares	816.24 $\pm$ 34.70 <sup>ns</sup>	9511.89 $\pm$ 342.49 <sup>ns</sup>
Seleções	854.57 $\pm$ 32.57	10176.29 $\pm$ 424.61

Dados são médias dos genótipos do grupo  $\pm$  erro padrão. Letras iguais na mesma coluna significa que não diferem entre si pelo teste de Tukey a 0.05%. ns- não significativo. <sup>1</sup>Compostos fenólicos totais expresso em mg do equivalente ácido clorogênico/100g amostra fresca. <sup>2</sup>Atividade antioxidante total expressa em  $\mu$ g equivalente trolox/g amostra fresca.

Em relação às frutas produzidas por seleções e cultivares sem espinhos, a S17/01 apresentou teor de compostos fenólicos superior às demais, ainda que não tenha diferido da S02/96. Quanto à atividade antioxidante, a S02/96, a S12/01 e a S17/01 diferem significativamente da S14/01 (Tabela 3).

Tabela 3. Compostos fenólicos totais e atividade antioxidante em frutas de seleções de amoreira-preta, sem espinhos. Embrapa Clima Temperado, Pelotas, RS, 2008.

Seleções sem espinho	Compostos fenólicos <sup>1</sup>	Atividade antioxidante <sup>2</sup>
S02/96	911.1 $\pm$ 78.2 ab	11289.4 $\pm$ 890.4 a
S12/01	818.6 $\pm$ 56.5 b	11032.6 $\pm$ 464.8 a
S14/01	770.4 $\pm$ 10.2 b	8320.8 $\pm$ 90.3 b
S17/01	982.7 $\pm$ 58.7 a	10341.1 $\pm$ 364.1 a

Dados são médias de três repetições  $\pm$  desvio padrão. Letras iguais na mesma coluna significa que não diferem entre si pelo teste de Tukey a 0.05%. <sup>1</sup>Compostos fenólicos totais expresso em mg do equivalente ácido clorogênico/100g amostra fresca. <sup>2</sup>Atividade antioxidante total expressa em  $\mu$ g equivalente trolox/g amostra fresca.

Realizada a comparação entre os dois grupos (com x sem espinhos), não observou-se diferença significativa no teor de compostos fenólicos e nem na atividade antioxidante (Tabela 4).

Tabela 4. Compostos fenólicos totais e atividade antioxidante de amora-preta com espinhos vs sem espinhos. Embrapa Clima Temperado, Pelotas, RS, 2008.

Grupos	Compostos fenólicos <sup>1</sup>	Atividade antioxidante <sup>2</sup>
Sem espinho	870.71 $\pm$ 28.42 <sup>ns</sup>	10245.96 $\pm$ 375.05 <sup>ns</sup>
Com espinho	839.24 $\pm$ 23.83	9910.53 $\pm$ 291.31

Dados são médias dos genótipos do grupo  $\pm$  erro padrão. Letras iguais na mesma coluna significa que não diferem entre si pelo teste de Tukey a 0.05%. ns- não significativo. <sup>1</sup>Compostos fenólicos

totais expresso em mg do equivalente ácido clorogênico/100g amostra fresca. <sup>2</sup>Atividade antioxidante total expressa em µg equivalente trolox/g amostra fresca.

#### 4. CONCLUSÕES

Entre as seleções e cultivares com espinhos, a S16/96 apresenta os maiores teores de compostos fenólicos e atividade antioxidante. Das seleções sem espinhos, a S17/01 e S02/96 apresentam os maiores teores de compostos fenólicos. As seleções S02/96, S12/01 e S17/01 apresentaram similar atividade antioxidante, porém superiores a S14/01. O teor de compostos fenólicos e a atividade antioxidante em amora-preta independem da presença ou ausência de espinhos na planta.

#### 5. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ANTUNES, L. E. C. Amora-Preta: Nova Opção de Cultivo no Brasil. **Ciência Rural**, Santa Maria, v.32, n.1, 2002
- BRAND-WILLIAMS, W.; CUVELIER, M. E.; BERSET, C. The phenolic constituents of *Prunus domestica* L.-The quantitative analysis of phenolic constituents. **Lebensm Wiss Technology**, Oxford, v.28, p.25-30, 1995.
- DING, M.; FENG, R.; WANG, S.Y.; BOWMAN, L.; LU, Y.; QIAN, Y.; CASTRANOVA, V.; JIANG, B-H.; SHI, X. Cyanidin-3-glucoside, a Natural Product Derived from Blackberry, Exhibits Chemopreventive and Chemotherapeutic Activity. **Journal of Biological Chemistry**, Maryland, v.281, n.25, p.17359-17368, 2006.
- HERTOG, M.G.L.; SWEETNAM, P. M.; FEHILY, A M.; ELWOOD, P. C.; KROMHOUT, D. Antioxidant flavonols and ischaemic heart disease in a Welsh population of men. The Caerphilly study. **American Journal of Clinical Nutrition**, v.65, p.1489-1494, 1997.
- ISHIGE, K.; SCHUBERT, D.; SAGARA, Y. Flavonoids protect neuronal cells from oxidative stress by three distinct mechanisms. **Free Radical Biological Medicine**, v.30, p.433-446, 2001.
- SEERAM, N.P.; ADAMS, L.S.; ZHANG, Y; LEE, R. SAND, D.; SCHEULLER, H.S.; HEBER, D. Blackberry, Black Raspberry, Blueberry, Cranberry, Red Raspberry, and Strawberry Extracts Inhibit Growth and Stimulate Apoptosis of Human Cancer Cells In Vitro. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, Washington, v.54, p.9329-9339, 2006.
- SELLAPPAN, S.; AKOH, C.C.; KREWER, G. Phenolic Compounds and Antioxidant Capacity of Georgia-Grown Blueberries and Blackberries. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, Washington, v.50, p.2432-2438, 2002.
- STOCLET, J.C.; Chataigneau, T.; Ndiaye, M.; Oak, M.H.; El Bedoui, J.; Chataigneau, M.; Schini-Kerth, V.B. Vascular protection by dietary polyphenols. **European Journal of Pharmacology**, v.500, p.299-313, 2004.
- SWAIN, T.; HILLIS, W.E. The phenolic constituents of *Prunus domestica* L.- The quantitative analysis of phenolic constituents. **Journal of the Science Food and Agriculture**. Oxford, v.10, p.63-68, 1959.
- TATE, P.; STANNER, A.; SHIELDS, K.; SMITH, S.; LARCOM, L. Blackberry extracts inhibit UV-induced mutagenesis in *Salmonella typhimurium* TA100. **Nutrition Research**, amsterdam, v.26, p.100-104, 2006.