

## **Teor de compostos fenólicos e atividade antioxidante em maçãs cv. fuji minimamente processadas e tratadas com antioxidantes após armazenamento em câmara fria.**

**MARINES BATALHA MORENO<sup>1</sup>; RUFINO FERNANDO FLORES CANTILLANO; TAÍSA BANDEIRA LEITE; MEDELIN MARQUES DA SILVA; JARDEL ARAÚJO RIBEIRO**

<sup>1</sup>Programa de Pós-Graduação em Ciência e Tecnologia de Alimentos (Faculdade de Agronomia Eliseu Maciel) Universidade Federal de Pelotas, Campus Capão do Leão s/n – CEP:96010-900 (Brasil). e-mail: [marinesfaem@gmail.com](mailto:marinesfaem@gmail.com)

**Resumo:** A maçã (*Malus domestica*) é uma das principais frutas comercializadas no Brasil. Este trabalho teve por objetivo a quantificação do conteúdo de compostos fenólicos totais e atividade antioxidante da maçã cv. Fuji minimamente processada com diferentes períodos de vida de prateleira e tratadas com água destilada (T1), cloreto de L-cisteína a 0,5% (T2), ácido L-ascórbico a 1% (T3), cloreto de L-cisteína a 0,5% + cloreto de cálcio a 1% (T4) e ácido L-ascórbico a 1% + cloreto de cálcio a 1% (T5). Após os tratamentos foram colocadas em bandejas de poliestireno expandido e embaladas com filme PVC esticável, e armazenadas a 4°C com UR de 90-95%, durante quatro períodos: 3, 6, 9 e 12 dias. Os compostos fenólicos totais apresentaram uma menor quantidade para o T1 (234,72), e maior quantidade para T2 (271,99), T3 (284,06) T4 (289,21) e T5 (292,58), e para as épocas de armazenamento apresentaram o menor resultado para época 3 dias (243,94), já os outros períodos de 6 (294,87), 9 (277,59) e 12 (281,65) dias, foram superiores, expressos em ácido clorogênico.100<sup>-1</sup>g de fruta. Demonstrou-se maior atividade antioxidante para o T3 (2612,79), T4 (2650,75) e T5 (2866,39), já uma menor atividade para T1 (2135,11) e T2 (2482,15), expressos em µg trolox.grama<sup>-1</sup> de fruta. Com base nos resultados aqui apresentados, pode-se concluir que a maçã cv. Fuji minimamente processada e tratada com os antioxidantes pode apresentar características interessantes para a indústria por demonstrar uma boa fonte de compostos com alta atividade antioxidante.

**Palabras claves:** fenóis, *Malus domestica*, cloreto de L-cisteína, ácido L-ascórbico.

### **INTRODUÇÃO**

A maçã (*Malus domestica*) é uma das principais frutas comercializadas no Brasil, tendo grande importância no faturamento anual das vendas de frutas frescas brasileiras. Atualmente a cultura da maçã é uma atividade econômica relevante na Região Sul do país, com repercussão no cenário internacional, contribuindo com cerca de 1,5% da produção

mundial (Wosiacki et al., 2000). O setor de frutas minimamente processadas vem crescendo e isso é resultado das mudanças nos hábitos de consumo, aumentando a competitividade no setor produtivo e garantindo aos produtores novas possibilidades de colocação de seus produtos no mercado. Uma série de etapas caracteriza o processamento mínimo como sanitização, descascamento, corte e/ ou abrasões, que

promovem a conveniência de consumo de frutas e hortaliças, às expensas da redução de sua vida útil pós-colheita. O corte dos tecidos descompartmentaliza as células, favorecendo a atividade de enzimas que causam o escurecimento e o amaciamento dos tecidos. Vários aditivos se aplicam para a redução do escurecimento enzimático de vegetais tais como cloreto de L-cisteína e ácido L-ascórbico. O cloreto de L-cisteína tem sido utilizado com eficácia na conservação de banana (Melo; Vilas-Boas, 2006), maçãs e batatas (Molnar-Pearl ; Friedman, 1990; Rocculi et al., 2007). O ácido L-ascórbico tem sua ação redutora e contribuição nutricional (vitamina C), e é utilizado com eficácia para evitar o escurecimento enzimático de batatas (Rocculi et al., 2007), abacaxis (González-Aguilar et al., 2004), pêras (Gorny et al., 2002), entre outros. As maçãs apresentam uma série de compostos ativos, chamados de fitoquímicos, onde suas concentrações variam de acordo com o cultivar, ponto de colheita, armazenamento e processamento das frutas. Os principais fitoquímicos encontrados em maçã relacionados à prevenção de doenças crônicas não transmissíveis são os flavonóides. A forma como estes compostos atuam incluem redução da proliferação celular (Kern, et al., 2005), proteção do DNA celular e inibição de invasão dos tumores (McCann, et al., 2007). Este trabalho teve por objetivo a quantificação do conteúdo de compostos fenólicos totais e atividade antioxidante da maçã cv. Fuji minimamente processada armazenada em diferentes épocas e tratadas com os antioxidantes ácido l-ascórbico a 1% e cloreto de l-cisteína a 0,5%, e com o produto cloreto de cálcio a 1%.

## MATERIAIS E MÉTODOS

### *Material vegetal*

O experimento foi conduzido com maçãs cv. Fuji (*Malus domestica*, Borkh.) provenientes do pomar comercial da empresa Randon Agrosilvopastoril S.A. (RASIP), em Vacaria, no Rio Grande do Sul (Brasil), situado a aproximadamente 955m de altitude, apresentando como coordenadas geográficas

50° 56' 02" de latitude sul e 28° 30' 14" de longitude oeste. O clima de Vacaria, conforme a classificação de Köppen (1948) é do tipo Cfb: temperado úmido, com temperatura média anual de 15,5°C, média das mínimas de 10,2°C e média das máximas de 22,3°C.

### *Preparo do processamento mínimo*

O processamento mínimo foi conduzido no Laboratório de Pós-colheita da Embrapa Clima Temperado (Pelotas-RS, Brasil). As frutas íntegras foram estocadas em câmaras frias a 1°C por 223 dias, para o posterior processamento. Primeiramente passaram pela sanitização com hipoclorito de sódio a 2% por 10 minutos em temperatura ambiente. Cada maçã foi cortada em 8 fatias em formato de gomos, retirando-se a parte central com as sementes. Posteriormente as maçãs foram tratadas com: água destilada como controle (T1), cloreto de L-cisteína a 0,5% (T2), ácido L-ascórbico a 1% (T3), cloreto de L-cisteína a 0,5% com 1% de cloreto de cálcio (T4) e ácido L-ascórbico a 1% com 1% de cloreto de cálcio, e colocou-se 6 a 8 pedaços de maçã em cada bandeja de poliestireno expandido (isopor) 150x150x20mm e embaladas com filme PVC esticável, as quais foram armazenadas em câmara fria a 4°C de temperatura, sob umidade relativa (UR) de 90-95%, sendo que a temperatura e a UR foram monitoradas por sistema computadorizado da empresa Climasul.

### *Preparo das amostras*

As maçãs minimamente processadas já tratadas com os antioxidantes, foram armazenadas em câmara fria e analisadas nos períodos de 3, 6, 9 e 12 dias. Em amostras com três repetições com 5 g cada, foram adicionados 20 mL de solvente metanol em tubo tipo falcon de 50 mL. Foram trituradas em um moedor ultraturrax, centrifugadas em centrífuga refrigerada à 4° C por 15 minutos a 15.000 RPM. Foi coletado o sobrenadante em eppendorf de 2mL, e posteriormente armazenado em freezer (-18 á -22°C).

### *Análise de fenólicos totais*

Foi utilizada a metodologia adaptada de Swain e Hillis (1959). Em tubos falcon de 15 mL foram adicionados 4 mL de água ultra-pura e 250 µL de amostra, previamente retiradas do freezer. Após agitadas, foram adicionados 0,250 mL do reagente Folin-Ciocalteu 0,25 N sendo novamente agitadas e mantidas em repouso durante 3 minutos para reagirem. Posteriormente foram pipetados 0,5 mL de Carbonato de Sódio (Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub>) 1 N, onde reagiram por 2 horas. Após esse período, o espectrofotômetro foi zerado com o controle (branco) e as leituras realizadas a 725 nm, onde a concentração de fenólicos totais estimada foi baseada numa curva padrão usando-se ácido clorogênico (resultados expressos em ácido clorogênico.100<sup>-1</sup>g de fruta). Para as leituras acima de 0,6, as amostras foram diluídas com o solvente metanol e a reação foi realizada novamente.

#### *Análise da atividade antioxidante*

Foi utilizada a metodologia adaptada de Brand-Williams et al., (1995). Ao zerar o espectrofotômetro com solvente metanol, certificou-se que a absorvância inicial da solução de DPPH estava em torno de 1,1±0,02 no comprimento de onda de 515 nm. Com a micropipeta, adicionou-se uma alíquota de 200 µL de amostras com uma alíquota de 3800 µL de solução diluída de DPPH em tubo falcon de 15 mL, usando 200 µL de solvente metanol puro (branco) para se obter o fator de correção. Os tubos ficaram em reação por 24 horas, no escuro a temperatura ambiente. Após as 24 horas, o espectrofotômetro foi zerado com o solvente metanol e as leituras foram feitas a 515 nm, onde a atividade estimada foi baseada numa curva padrão usando-se trolox (resultados expressos em µg trolox.grama<sup>-1</sup> de fruta). Para as leituras inferiores a 0,2, as amostras foram diluídas com o solvente metanol e a reação foi repetida novamente.

#### *Análise estatística*

O delineamento experimental utilizado foi completamente casualizado com esquema fatorial 5x4 (5 tratamentos e 4 épocas de armazenamento). Os dados foram submetidos à análise de variância (ANOVA) e realizada a comparação de médias pelo teste de Tukey

(p<0,05), mediante o programa Statgraphic v. 4.0.

## RESULTADOS E DISCUSSÕES

Os resultados obtidos em relação à época de armazenamento e tratamentos com antioxidantes com e sem cloreto de cálcio em maçãs cv. Fuji minimamente processadas são apresentadas nas tabelas 1 e 2.

**Tabela 1:** Valores dos compostos fenólicos e atividade antioxidante nas épocas de armazenamento das maçãs cv. Fuji minimamente processadas.

Tratamentos	Compostos Fenólicos	Atividade Antioxidante
E1 ( 3 dias)	243,95b	2153,8b
E2 (6 dias)	294,88a	2859,11a
E3 (9 dias)	277,59a	2583,89ab
E4 (12 dias)	281,65a	2600,96a

Compostos fenólicos (ácido clorogênico.100<sup>-1</sup>g de fruta) e atividade antioxidante (µg trolox.grama<sup>-1</sup> de fruta). Médias seguidas por letras minúsculas distintas na coluna diferem entre si pelo do teste Tukey (p<0,05).

**Tabela 2:** Valores dos compostos fenólicos e atividade antioxidante nos tratamentos coadjuvantes realizados nas maçãs cv. Fuji minimamente processadas.

Tratamentos	Compostos Fenólicos	Atividade Antioxidante
T1	234,73b	2135,11b
T2	271,99a	24,82,15ab
T3	284,07a	2612,79a
T4	289,22a	2650,75a
T5	292,58a	2866,39a

Compostos fenólicos (ácido clorogênico.100<sup>-1</sup>g de fruta) e atividade antioxidante (µg trolox.grama<sup>-1</sup> de fruta), os tratamentos (T1=água destilada; T2=L-cisteína 0,5%; T3= L-ascórbico 1%; T4=L-cisteína 0,5%+CaCl<sup>2</sup> 1%; T5= L-ascórbico 1%+ CaCl<sup>2</sup> 1%). Médias seguidas por letras minúsculas distintas na coluna diferem entre si pelo teste Tukey (p<0,05).

Os valores obtidos para a atividade antioxidante demonstram uma diferença significativa tanto entre as épocas de armazenamento como entre os tratamentos coadjuvantes das maçãs cv. Fuji minimamente processadas. Observou-se através do teste

estatístico realizado que ocorreu um aumento da atividade antioxidante a partir da E2 (6 dias) mantendo-se sem diferença significativa nas E3 (9 dias) e E4 (12 dias) (Tabela 1). Com os tratamentos realizados observou-se que os que mantiveram a maior atividade foram o T3 (ác. L-ascórbico 1%), T4 (cloreto de L-cisteína 0,5% + cloreto de cálcio a 1%) e T5 (ác. L-ascórbico 1% + cloreto de cálcio a 1%), sendo que a testemunha apresentou o menor valor (Tabela 2). As propriedades antioxidantes estão muito relacionadas com a cultivar, com as condições de cultivo, como o ambiente e técnicas de manejo (Scalzo et al., 2005), além do grau de maturidade na colheita, sendo que, quanto mais maduras as frutas, menor o teor de compostos fenólicos totais e a atividade antioxidante (Wang; Lin, 2000; Siriwoharn et al., 2004; Castrejon et al., 2008). Todos os resultados encontrados neste estudo foram superiores aos encontrados por Gularte et al. (2007) em *M. everest* (maçã de polinização), *M. domestica* e farinha de maçã.

Os valores obtidos para os compostos fenólicos apresentaram diferenças estatísticas tanto nos tratamentos coadjuvantes como entre as épocas de armazenamento. Todos os tratamentos antioxidantes com e sem cloreto de cálcio realizados neste experimento apresentaram uma maior quantidade de fenóis que a testemunha (Tabela 2). Quando se analisou os resultados das épocas de armazenamento das maçãs minimamente processadas observou-se as épocas 2, 3 e 4 apresentaram os maiores valores, mas não observou-se diferenças estatísticas entre elas, com isso apresentando uma maior quantidade de fenóis após 6 dias de armazenamento em câmara fria a 4°C com UR de 90 a 95% (Tabela 1). Observou-se que o menor resultado encontrado de fenóis totais neste trabalho (234,725 em ácido clorogênico.100<sup>-1</sup>g de fruta) foi superior que o encontrado por Bernardes et al. (2011) e por Kim et al. (2003).

## CONCLUSÃO

Com os dados deste experimento conclui-se que, nas maçãs cv. Fuji minimamente processadas, os compostos fenólicos e a atividade antioxidante aumentam com o maior período de armazenamento, sendo que os

tratamentos com ácido L-ascórbico 1% (T3), cloreto de L-cisteína 0,5% + CaCl<sup>2</sup> 1% (T4), ácido L-ascórbico 1% + CaCl<sup>2</sup> 1% (T5) foram os que apresentaram a melhor atividade antioxidante e maior teor de compostos fenólicos sendo neste ultimo caso adicionado o tratamento de cloreto de L-cisteína 0,5% (T2).

## AGRADECIMENTOS

Os autores agradecem á empresa RASIP pelo fornecimento das frutas, á Embrapa Cima Temperado (Pelotas/Brasil) pelo apoio técnico e de infraestrutura, juntamente com o apoio da Universidade Federal de Pelotas/Programa de Pós-graduação Ciência e Tecnologia de Alimentos (PPGCTA/UFPEL) e á CAPES pela bolsa concedida.

## BIBLIOGRAFÍA

- Bernardes, N. R.; Talma, S. V.; Sampaio, S. H.; Nunes, C. R.; Almeida, J. A. R.; Oliveira, D. B. (2011). Atividade antioxidante e fenóis totais de frutas de campos dos Goytacazes RJ. *Ciências Biológicas e da Saúde*, v. 1, n. 1. Disponível em: <http://www.seer.perspectivasonline.com.br/index.php/CBS/article/viewFile/16/5>. Acesso em: 14, jun, 2013.
- Brand-Wiliams, W.; Cuvelier, M. E.; Berset, C. (1995). Use of a free radical method to evaluate antioxidant activity. **Food Science and Technology**, v.28, p.25-30.
- Castrejon, A. D. R.; Eichholz, I.; Rohn, S.; Kroh, L. W. (2008). Huyskens-Keil, S. Phenolic profile and antioxidant activity of highbush blueberry (*Vaccinium corymbosum* L.) during fruit maturation and ripening. **Food Chemistry**, Washington, v. 109, p. 564–572.
- Gonzalez-Aguilar, G. A. Ruiz-Cruz, R., A.; Rodrigues-Félix, And C. Y. (2004). Physiological and quality changes of fresh-cut pineapple treated with antibrowning agents. *Lebensmittel-Wissenschaft und-Technologie*, London, v. 37, n. 3, p. 369-376, May.
- Gorny, J. R. Hess-Pierce, B.; Cifuentes, R. A.; Kader, A. A. (2002). Quality changes in

- fresh cut pear slices as affected by controlled atmospheres and chemical preservatives. *Postharvest Biology and Technology*, Amsterdam, v. 24, n. 3, p. 271-278, Apr.
- Gularte, J. P. A.; Pereira, M. C.; Vizzotto, M. (2007). Compostos fenólicos totais e atividade antioxidante em produtos da cadeia produtiva da maçã. XVI Congresso de Iniciação Científica, pesquisa e responsabilidade ambiental. UFPEL. Pelotas, 2007. Disponível em: [www.ufpel.edu.br/cic/2007/cd/pdf/CA/CA\\_01631.pdf](http://www.ufpel.edu.br/cic/2007/cd/pdf/CA/CA_01631.pdf). Acesso em 10, mai, 2013.
- Kern, M.; Tjaden, Z.; Ngiewih, Y.; Puppel, N.; Will, F.; Dietrich, H.; Pahlke, G.; Marko, D. (2005). Inhibitors of the epidermal growth factor receptor in apple juice extract. *Molecular Nutrition Food Research*. v.49, n.4, p.317-328.
- Kim, D.; Jeong, S. W.; Lee, C. Y. (2003). Antioxidant capacity of phenolic phytochemicals from various cultivars of plums. *Food Chemistry*, Kidlington, v.81, p.231-326.
- Koppen, W. (1948). *Climatologia*. México: Fundo de Cultura Econômica. 478 p.
- Mccann, M. J.; Gill, C. I. R.; O' Brien, G.; Rao, J. R.; Mcroberts, W.C.; Hughes, P.; Mcentee, R.; Rowland, I.R. Anti-cancer properties of phenolics from apple waste on colon carcinogenesis *in vitro*. *Food and Chemical toxicology*, v.45, n.7, p.1224-1230, 2007.
- Melo, A. A. M.; Vilas-Boas, E. V. de B. (2006) Inibição do escurecimento enzimático de banana 'Maçã' minimamente processada. *Ciência e Tecnologia de Alimentos*, Campinas, v. 26, n. 1, p. 110-115, jan./mar.
- Molnar-Pearl, I.; Friedman, M. Inhibition of browning by sulfur amino acids: 3. apples and potatoes. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, Easton, v. 38, n. 8, p. 1652-1656, 1990.
- Rocculi, P.; Galindo, F. G.; Mendoza, F.; Wadso, L.; Romani, S.; Rosa, M. D.; Sjolholm, I. (2007). Effects of the application of anti-browning substances on the metabolic activity and sugar composition of fresh-cut potatoes. *Postharvest Biology and Technology*, Amsterdam, v. 43, n. 1, p. 151-157, Jan.
- Scalzo, J.; Politi, A.; Pellegrini, N.; Mezzetti, B.; Battino, M. (2005). Plant genotype affects total antioxidant capacity and phenolic contents in fruit. *Nutrition*, Los Angeles, v. 21, p. 207-213.
- Siriwoharn, T.; Wrolstad, R. E.; Finn, C. E.; Pereira, C. B. (2004). Influence of cultivar, maturity, and sampling on blackberry (*Rubus* L. Hybrids) anthocyanins, polyphenolics, and antioxidant properties. *Journal of Agriculture and Food Chemistry*, Washington, v. 52, p. 8.021-8.030.
- Swain, T.; Hills, W. E. (1959). The phenolic constituents of *Prunus* domestical. 1. The quantitative analysis of phenolic compounds. *Journal of the Science Food and Agriculture*, v. 10, n. 1, p. 63-68.
- Wang, S. Y.; Lin, H. S. (2000). Antioxidant activity in fruits and leaves of blackberry, raspberry, and strawberry varies with cultivar and developmental stage. *Journal of Agriculture and Food Chemistry*, Washington, v. 48, p. 140-146.
- Wosiacki, G.; Nogueira, A.; Silva, N. C. C. (2000). Brazilian apple production – a few years later. *Fruit Processing*, Schönborn, v. 10, n. 12, p. 472-475.