
Quantificação de compostos antioxidantes em frutos *in natura* e polpa congelada

Quantification of antioxidant compounds in fresh and frozen fruits pulp

Natália Bonissi Gonçalves¹, Guilherme Vannuchi Portari², Alceu Afonso Jordão³

¹Departamento de Clínica Médica da Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto/USP, Ribeirão Preto-SP, Brasil; ²Curso de Nutrição da Universidade Federal do Triângulo Mineiro/UFTM, Uberaba-MG, Brasil; ³Departamento de Ciências da Saúde da Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto/USP, Ribeirão Preto-SP, Brasil.

Resumo

Objetivo – O presente estudo teve como objetivo a dosagem de vitamina C, fenólicos totais e antocianinas, em frutas, para a verificação e possíveis perdas em frutas *in-natura* e polpa congelada. A ingestão diária de frutos e frutas assegura uma dieta rica em compostos bioativos, no entanto, as concentrações destes alimentos podem apresentar-se diferentes depois do processamento, no caso o congelamento, comparando-o com o fruto *in natura*. **Métodos** – Frutas obtidas no comércio local, nas variedades: ameixa, caqui, goiaba, maçã, pêra, uvas verde e vermelha foram utilizadas para as dosagens *in natura* e depois de 8 semanas de congelamento. Foram dosadas vitamina C, fenólicos totais, e antocianinas, sendo que foram feitas em triplicata. Os dados foram analisados por teste t considerando significativo $p < 0,05$. **Resultados** – Foi observada diminuição significativa em quantidades de vitamina C, compostos fenólicos e antocianinas em todas as frutas analisadas. A pêra mostrou-se a fruta mais afetada pelo processo de congelamento, apresentando a maior perda em todas as dosagens dos antioxidantes, diminuindo 50,9% em vitamina C, 96,2% em antocianinas e 60,2% em fenólicos totais. Já a goiaba foi a fruta que se mostrou mais resistente ao congelamento, apresentando a menor diminuição em todas as dosagens de antioxidantes, com perda de 9,5% de vitamina C, 9,7 de fenólicos totais, e 25,7% de antocianinas. Em concentrações de vitamina C, maçã teve diminuição de 36,6%, ameixa de 42,9%, caqui 26,9%, uva verde 22,6%, uva vermelha 47% e sementes de goiaba 27,6%. Já nas concentrações de fenólicos totais maçã teve diminuição de 11,2%, ameixa de 24,7%, caqui 26,9%, uva verde 48,5%, uva vermelha 46,6% e sementes de goiaba 30,1%. Quanto as antocianinas maçã apresentou diminuição de 91,9%, ameixa de 81,1%, caqui 35,8%, uva verde 51,4%, uva vermelha 57,1% e sementes de goiaba 32,4%. **Conclusões** – Desta maneira fica evidente a perda, diferenciada entre as frutas, de compostos antioxidantes com o processamento.

Descritores: Ácido Ascórbico; Antioxidantes; Frutas; Congelamento; Fenólicos

Abstract

Objective – The present study had the objective of the dosage of vitamin C, total phenolics and anthocyanins, in fruits, for the verification and possible losses in *in natura* fruits and frozen pulp. The daily intake of fruits and fruits ensures a diet rich in elements that contribute to the antioxidant capacity. However, the concentrations of these foods may be different after processing, in this case the freezing, comparing it with the *in natura* fruit. **Methods** – Fruits obtained in the local commerce, in the varieties: plum, kaki, guava, apple, pear, green and red grapes were used for the *in natura* dosages and after 8 weeks of freezing. The laboratorial determinations were Vitamin C, total phenolics and anthocyanins. All dosages were standardized in triplicate. Data were analyzed by t-test considering significant $p < 0.05$. **Results** – Significant decrease was observed in amounts of vitamin C, phenolic compounds and anthocyanins in all fruits analyzed. The pear was the fruit most affected by the freezing process, presenting the highest loss in all antioxidant dosages, decreasing 50.9% in vitamin C, 96.2% in anthocyanins and 60.2% in total phenolics. The guava fruit was the most resistant to freezing, presenting the lowest decrease in all antioxidant dosages, with loss of 9.5% of vitamin C, 9.7 of total phenolics, and 25.7% of anthocyanins. In vitamin C concentrations, apple had a decrease of 36.6%, plum of 42.9%, persimmon 26.9%, green grape 22.6%, red grape 47% and guava seeds 27.6%. In the total phenolic concentrations, apple had a decrease of 11.2%, plum of 24.7%, persimmon 26.9%, green grape 48.5%, red grape 46.6 % and guava seeds 30.1%. As for the anthocyanins apple showed a decrease of 91.9%, plum of 81.1%, persimmon 35.8%, green grape 51.4%, red grape 57.1 % and guava seeds 32.4%. **Conclusions** – In this way the loss, differentiated between fruits, of antioxidant compounds with the processing.

Descriptors: Ascorbic Acid; Antioxidants; Fruits; Freezing; Phenolic

Introdução

O Brasil é um país com uma excelente variedade em frutos e um dos principais produtores mundiais, com grande impacto para agroindústria. Os frutos contêm elementos essenciais para a manutenção da saúde, tais como, vitaminas e minerais, além de substâncias bioativas que ajudam a regular as funções do organismo e contribuindo com a capacidade antioxidante¹.

Os frutos contêm também, compostos secundários de natureza fenólica, denominados polifenóis, dentre estes encontram-se as antocianinas, que são os

pigmentos presentes em frutas de cor escura. As antocianinas demonstram capacidade de captar radicais livres, exercendo atividade antioxidante, com efeitos na prevenção de doenças, como por exemplo a doença cardiovascular².

A vitamina C, junto com os compostos fenólicos, podem inativar radicais de oxigênio e evitar a formação de stress oxidativo, além de muitas outras funções³.

Compostos fenólicos agem como antioxidantes, não somente por sua habilidade em doar hidrogênio ou elétrons, mas também em virtude de seus radicais

intermediários estáveis, que impedem a oxidação de vários ingredientes do alimento, particularmente de lipídios, mostrando ai a importância em ingeri-los em concentrações que atingem as recomendações⁴.

Compostos fenólicos são responsáveis pelo amargor, adstringência, sabor, cor e estabilidade oxidativa dos frutos e legumes, tendo mostrado um efeito positivo na proteção da saúde⁵.

Dados mostraram que a ingestão continuada de alimentos ricos em carotenóides e compostos fenólicos em geral está associada à prevenção de diversos tipos de doenças degenerativas. Efeitos que têm sido particularmente atribuídos aos compostos que possuem atividade antioxidante nos vegetais: vitaminas C e E, os compostos fenólicos, especialmente os flavonóides, e os carotenóides⁴.

Conhecendo-se concentrações de vitamina C, fenólicos totais e antocianinas de um fruto, é possível concluir sobre sua capacidade antioxidante. No entanto, as concentrações destes elementos podem apresentar-se diferentes depois de um processamento, por exemplo, comparando-se com o fruto *in natura*. O conteúdo de compostos bioativos em frutos depende diretamente de fatores naturais como o próprio cultivar, região e maturidade do fruto⁶.

Comparação entre amostras comerciais de diferentes marcas também mostram uma variação muito grande no conteúdo de compostos bioativos, por exemplo em polpas de açaí prontas para o consumo⁷.

De um modo interessante temos que frutos tradicionais, mas obtidos de regiões específicas podem mostrar alterações na sua composição, como por exemplo o maracujá da região do "cariri", que tem uma quantidade maior de vitamina C, quando comparado com aquelas frutas obtidas em outras regiões⁸. Um trabalho bastante interessante analisou frutas do cerrado, mostrando grande potencial antioxidante de frutas como o marolo, cagaíta e o buriti, entre outras⁹.

A dosagem de vitamina C, fenólicos totais e antocianinas, em frutos *in natura* e em polpas das mesmas congeladas podem nos informar sobre a capacidade antioxidante destes, e se o processamento pode acarretar perdas destes elementos, diminuindo a atividade redutora de radicais livres, neste sentido o presente estudo teve como objetivo a verificação de possíveis perdas deste compostos bioativos em polpa de frutos *in natura* e depois de congelada.

Métodos

Foram feitas dosagens de vitamina C, fenólicos totais e antocianinas em frutos *in natura*, nas variedades maçã (*Malus communis*), pêra (*Pyrus communis*), ameixa amarela (*Eryibotria japonica*), caqui (*Diospyros kaki*), goiaba (*Psidium guajava*) (dosada separadamente sementes e polpa), e uvas verde e vermelha (*Vitis vinifera*). Todas as frutas foram adquiridas no comércio local de Ribeirão Preto/SP e estavam prontas para consumo, em bom estado de maturação e conservação. As mesmas frutas foram usadas para todas as determinações, tanto

in natura como no material congelado. Por tratar-se de dosagens em alimentos não existe necessidade de aprovação por comitê de ética, seja para humanos ou animais, visto que a s frutas não serão consumidas.

Na preparação, uma por vez, as frutas foram devidamente higienizadas em água corrente e sabão, sendo posteriormente decorticadas em água com gelo e removidas partes não comestíveis (sementes e caules), deixando somente a polpa da fruta própria para consumo. Foram retiradas amostras para as dosagens, e o restante pesado e separado em 2 porções semelhantes colocadas em sacos plásticos, para o congelamento a - 20° C durante 8 semanas.

A dosagem de vitamina C foi feita através de uma reação colorimétrica¹⁰. Em resumo, amostras de 1g de fruto, foram adicionadas de 10mL de ácido tricloroacético (TCA) a 5% a 4° C, homogeneizadas com auxílio de ultraturrex e então centrifugadas a 1000 rpm durante 10 minutos. Depois disto, alíquotas de 600µL do sobrenadante foram retiradas em triplicadas. Nestas foram adicionados 200µL de uma solução do reagente de cor DTC. A solução de DTC é feita usando-se soluções de 2,4-dinitrofenilidrazina, thiuréia e sulfato de cobre, na proporção de 20:1:1 (v:v:v). Depois de adicionado o reagente, as amostras foram colocadas em banho de água a 37°C durante 3 horas. Terminado o tempo, adicionou-se 1mL de H₂SO₄ a 65% para interromper a reação. Após 30 min da amostra mantida no escuro foram feitas as leituras em espectrofotômetro a 520nm. A concentração de vitamina C foi calculada por meio de uma curva de calibração de ácido ascórbico.

A dosagem de fenólicos totais foi feita pelo método de Folin-Ciocalteu adaptado¹¹. Amostras de 5g de fruto foram adicionadas de 100mL de etanol 80% e estas foram deixadas durante 2 horas em aquecimento a 60° C e sob agitação. Depois de filtradas e acertado o volume em 100mL, alíquotas de 100µL em triplicata foram pipetadas com 100µL de uma solução composta de MeOH/0.3% HCl (6:4, v/v) seguida de 2mL de uma solução de Na₂CO₃ a 2%. Foram adicionados então, 100µL de uma solução 50% do reagente de cor Folin-Ciocalteu, e estes deixados em repouso, protegidos da luz durante 30 minutos. As amostras foram lidas em espectrofotômetro a 750nm e os resultados calculados a partir de uma curva padrão de ácido gálico.

O conteúdo de antocianinas totais foi determinado pelo método da diferença de pH. Para a dosagem foi necessário o uso de duas soluções tampão de diferentes pHs. A primeira é uma solução de 0,025M de cloreto de potássio com pH1,0, e a segunda de 0,4M de acetato de sódio com pH4,5. Estas soluções são a base para a diluição das amostras.

Foi determinado que as frutas seriam dosadas em porções de 1 grama diluídas em 10ml de cada uma das soluções tampão. As amostras foram então homogeneizadas com as diferentes soluções. Depois foi retirado o excesso de partes sólidas através da filtração simples e foram deixadas descansando no escuro durante 15 minutos. Foram lidas em espectrofotômetro

Tabela 1. Concentrações de Vitamina C (mg/dl) em frutos *in natura* e congelados

	Fruto <i>in natura</i>	Fruto congelado por 8 semanas	Diminuição em (%)
Maçã	5,65 ± 0,16	3,58 ± 0,19	36,6
Pêra	11,51 ± 0,62	5,65 ± 0,17	50,9
Ameixa	12,69 ± 0,15	7,25 ± 0,22	42,9
Caqui	10,90 ± 0,29	7,97 ± 0,11	26,9
Uva Verde	3,94 ± 0,06	3,05 ± 0,11	22,6
Uva Vermelha	8,28 ± 0,42	4,39 ± 0,10	47,0
Goiaba-Semente	37,01 ± 0,71	33,48 ± 0,24	9,5
Goiaba	41,52 ± 0,35	30,07 ± 0,51	27,6

Valores expressos em média ± desvio padrão

Tabela 2. Valores de Fenólicos totais (mg/100g) em frutos *in natura* e congelados

	Fruto <i>in natura</i>	Fruto congelado por 8 semanas	Diminuição em (%)
Maçã	36,0 ± 1,6	31,9 ± 1,3	11,2
Pêra	69,7 ± 3,2	27,8 ± 1,2	60,2
Ameixa	85,0 ± 6,2	64,0 ± 3,3	24,7
Caqui	254,3 ± 7,7	186,0 ± 7,6	26,9
Uva Verde	20,3 ± 1,3	10,5 ± 0,3	48,5
Uva Vermelha	10,7 ± 0,5	5,7 ± 1,1	46,6
Goiaba-Semente	37,1 ± 1,2	33,5 ± 0,4	9,7
Goiaba	54,2 ± 3,1	37,9 ± 1,4	30,1

Valores expressos em média ± desvio padrão

Tabela 3. Concentração de Antocianinas (mg/100g) em frutos *in natura* e congelados

	Fruto <i>in natura</i>	Fruto congelado por 8 semanas	Diminuição em (%)
Maçã	2,63 ± 0,06	0,21 ± 0,11	91,9
Pêra	2,77 ± 0,75	0,11 ± 0,00	96,2
Ameixa	7,15 ± 0,49	1,35 ± 0,76	81,1
Caqui	5,65 ± 0,67	3,63 ± 0,11	35,8
Uva Verde	2,63 ± 0,71	1,28 ± 0,38	51,4
Uva Vermelha	1,24 ± 0,16	0,53 ± 0,11	57,1
Goiaba-Semente	2,70 ± 0,34	2,06 ± 0,12	23,7
Goiaba	4,84 ± 0,89	3,27 ± 0,16	32,4

Valores expressos em média ± desvio padrão

cada amostra duas vezes. Com pH 1,0 primeiro avaliado em 510nm e depois em 700nm, logo depois a amostra com pH 4,5 lida em 510nm e depois em 700nm, sendo que os cálculos foram feitos seguindo o descrito por Klopotek e colaboradores³.

Os resultados são apresentados como média ± desvio padrão de triplicatas. As comparações entre grupos *in natura* e congelados foram realizadas por teste t, estabelecendo como nível de significância $p < 0,05$.

Resultados e Discussão

Tradicionalmente no Brasil os frutos são consumidos *in natura* mas um crescente mercado de polpas tem emergido principalmente pela facilidade de preparo

de sucos. No caso das polpas congeladas de frutas, o processamento e a estocagem podem afetar o conteúdo e a biodisponibilidade destes componentes¹².

No presente estudo, verificamos que todas as frutas tiveram diminuição significativa de teores de vitamina C, fenólicos totais e antocianinas após sua transformação em polpa e armazenamento por 8 semanas sob congelamento por 20° C negativos.

A pêra mostrou-se a fruta mais afetada pelo processo de congelamento, apresentando a maior perda em todas as dosagens dos antioxidantes. Já a goiaba foi a fruta que se mostrou mais resistente ao congelamento, apresentando a menor diminuição em todas as dosagens de antioxidantes.

Os resultados referentes aos níveis de vitamina C são apresentados na Tabela 1. Pode-se notar que para a pêra, houve uma diminuição de 50,9% enquanto para a goiaba esta diminuição foi de 9,5%.

Quanto aos fenólicos totais, os resultados estão presentes na Tabela 2. Pêra e goiaba tiveram perda de 60,2% e 9,7%, respectivamente.

Já para as antocianinas (Tabela 3), a perda foi de 96,2% para pêra e 25,7% para goiaba.

Um outro estudo verificando a estabilidade de compostos antioxidantes na pêra sob efeito do congelamento e verificaram a diminuição dos teores de vitamina C, compostos fenólicos e atividade antioxidante, além da mudança de cor durante o congelamento¹³. Isto é explicado pela contínua oxidação existente nas frutas, mostrando que o congelamento não impede totalmente os processos degradativos, enzimáticos ou não, que ocorrem principalmente após a injúria do tecido, i.e., corte da fruta. Da mesma maneira foi verificada queda nas concentrações de fenólicos e antocianinas totais de *blueberrys* quando congelados a -20° C por 2 meses¹⁴.

Analisando o efeito do processamento em morangos foi observado que em altas temperaturas, ou mesmo processado como suco de fruta, o morango mostrou diminuição de ácido ascórbico, fenólicos totais e antocianinas, comparando-o com fruta natural³.

Interessantemente polpas de frutas podem apresentar aumento nos conteúdos de fenólicos livres em 33.60% e 68.72% para mangaba e umbu-cajá, respectivamente, enquanto na siriguela os fenólicos livres foram reduzidos em 56.55%, sempre quando comparados com as dosagens nas próprias frutas¹⁵.

Conclusão

O processo de congelamento em frutos faz com que os compostos antioxidantes presentes diminuam com o passar do tempo, tornando sua eficácia, quando este é o objetivo, discutível.

Referências

1. Kuskoski EM, Asuero AG, Morales MT, Fett R. Wild fruits and pulps of frozen fruits: antioxidant activity, polyphenols and anthocyanins. *Cienc Rural* [online]. 2006;36(4):1283-7.
2. Stoclet JC, Chataigneau T, Ndiaye M, Oak MH, El Bedoui J, Chataigneau M, et al. Vascular protection by dietary polyphenols. *Eur J Pharmacol*. 2004;500(1-3):299-313.
3. Klopotek Y, Otto K, Böhm V. Processing strawberries to different products alters contents of vitamin C, total phenolics, total anthocyanins, and antioxidant capacity. *J Agric Food Chem*. 2005;53(14):5640-6.
4. Silva MLC, Costa RS, Santana ASS, Koblitiz MGB. Compostos fenólicos, carotenóides e atividade antioxidante em produtos vegetais. *Ciências Agrárias*. 2010;31(3):669-82.
5. Ferreira EA, Siqueira HE, Vilas Boas EV, Hermes VS, Rios AO. Bioactive compounds and antioxidant activity of pineapple fruit of different cultivars. *Rev Bras Frutic*. 2016;38(3): e-146.
6. Stafussa AP, Maciel GM, Rampazzo V, Bona E, Makara CN, Demczuk Junior B, Haminiuk CWI. Bioactive compounds of 44 traditional and exotic Brazilian fruit pulps: phenolic compounds and antioxidant activity, *Int J Food Properties*. 2018;21(1):106-18.
7. Pretti MA, Ovídio PP, Passos CR, Jordão AA. Comparação do potencial antioxidante em polpas de açaí prontas para consumo. *Saúde*. 2018;7(1):31-45.
8. Lima-Neto AB, Marques MM, Mendes FN, Vieira ÍG, Diniz DB, Guedes MI. Antioxidant activity and physicochemical analysis of passion fruit (*Passiflora glandulosa* Cav.) pulp native to Cariri region. *Acta Sci Biol Sci*. 2017;39(4): 417-22.
9. Schiassi MCEV, de Souza VR, Lago AMT, Campos LG, Queiroz F. Fruits from the Brazilian Cerrado region: Physico-chemical characterization, bioactive compounds, antioxidant activities, and sensory evaluation *Food Chem*. 2018;245:305-11.
10. Bessey OA. Ascorbic acid. VI. Microchemical methods. New York: Academic Press; 1960. v.1, pág 303-05. (Food Chem)
11. Lin PY, Lai HM. Bioactive compounds in legumes and their germinated products. *J Agric Food Chem*. 2006;54(11):3807-14.
12. Sartori GV, Costa CV, Ribeiro AB. Conteúdo fenólico e atividade antioxidante de polpas de frutas congeladas. *Rev Bras Pesq Alim*. 2014;5:23-9.
13. Oms-Oliu G, Odriozola-Serrano I, Soliva-Fortuny R, Martín-Belloso O. Antioxidant content of fresh-cut pears stored in high-O₂ active packages compared with conventional low-o₂ active and passive modified atmosphere packaging. *J Agric Food Chem*. 2008;56(3):932-40.
14. Srivastava A, Akoh CC, Yi W, Fischer J, Krewer G. Effect of storage conditions on the biological activity of phenolic compounds of blueberry extract packed in glass bottles. *J Agric Food Chem*. 2007;55(7):2705-13.
15. Dutra RLT, Dantas AM, Marques DA, Batista JDF, Meireles BRLA Cordeiro AM. Bioaccessibility and antioxidant activity of phenolic compounds in frozen pulps of Brazilian exotic fruits exposed to simulated gastrointestinal conditions. *Food Res Int*. 2017;100(1):650-7.

Endereço para correspondência:

Prof. Dr. Alceu Afonso Jordão Junior
Curso de Nutrição e Metabolismo Departamento de Ciências da Saúde
Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto
Av. Bandeirantes, 3900
Ribeirão Preto-SP, CEP 14049-900
Brasil

E-mail: alceu@fmrp.usp.br

Recebido em 23 de janeiro de 2019
Aceito em 01 de março de 2019