

Determinação de flavonóides e antocianinas totais em morango de cultivo convencional e orgânico

Carolina Szecko Ribeiro aluna do Instituto Federal de Santa Catarina, Lages- SC,
Carolszecko@gmail.com

Alice de Sousa de Castro aluna do Instituto Federal de Santa Catarina, Lages-SC
Alicesousacastro.ac@gmail.com

Dr. Marcel Piovezan, orientador, professor do Instituto Federal de Santa Catarina,
Lages-SC
marcel.piovezan@ifsc.edu.br

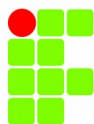
RESUMO: O morango é uma planta herbácea, rasteira, pertencente à família Rosácea, sendo a parte comestível um pseudofruto, tem textura macia, odor característico, coloração vermelho brilhante, muito delicado e pouco resistente. Sua composição química de bioativos destacam-se compostos fenólicos, entre eles antocianinas que pertencem ao grupo dos flavonóides. Os flavonóides apresentam um grande papel na prevenção ou retardam o aparecimento de várias doenças por terem atividade antioxidante. O presente trabalho tem como objetivo quantificar o teor de antocianinas e flavonóides totais nos frutos de cultivo orgânico e compará-los com frutos de cultivo convencional. Para a determinação de antocianinas totais foi utilizado 500 μ L de extrato diluído através do método de pH diferencial com medidas no espectrofotômetro de UV visível em comprimento de onda de 510 nm e 700 nm. A determinação de flavonóides totais foi realizada utilizando 1 mL do extrato de morango e as medidas também em espectrofotômetro de UV visível em comprimento de onda de 510 nm através de curva de calibração externa utilizando epicatequina como padrão. Após as análises as amostras foram comparadas, ao avaliarmos estatisticamente notou-se que os valores de antocianinas e flavonóides totais para as amostras avaliadas não se diferenciam significativamente quanto a forma de cultivo. Para este caso, não pode-se utilizar estas análises como forma de diferenciar morangos de cultivo convencional de orgânico, mas espera-se que o morango de cultivo orgânico tenha mais flavonóides e antocianinas totais que o de cultivo convencional.

Palavra Chave: compostos fenólicos, pseudofruto, antioxidante.

INTRODUÇÃO

O morango orgânico é cultivado sem o uso de pesticida, agrotóxicos ou fertilizantes químicos, eles são produzidos usando recursos da própria natureza e algumas técnicas como o adubo verde, cultivos de cobertura, plantio direto e compostagem como casca e folhas de árvore e esterco, entre outros. Assim, o solo é enriquecido em nutrientes apresentando mais resistência para o plantio dos morangos sem prejudicar o meio ambiente e ajudando na preservação dos recursos naturais. O cultivo orgânico se dá em primeiro lugar pela preocupação com a saúde e não são produzidos baseados em transgênicos, pois o cultivo orgânico preocupa-se com o meio ambiente, com o solo, com a água, com os animais e com a saúde da humanidade (ALVES, E.M., *et al.*, 2012).

O morango é rico em pectinas e outras fibras que ajudam no controle do colesterol além de conter flavonóides como antocianinas e o ácido elágico que pode ajudar na prevenção de alguns tipos de câncer (Quinato, E.E.Q, 2007). As antocianinas pertencem ao grupo dos flavonóides e são componentes de frutas vermelhas como o morango, representando um importante papel na prevenção ou retardam o aparecimento de várias doenças, graças a sua atividade antioxidante (Volp, A.C.P.V., 2008). Os flavonóides e a classe das antocianinas, por serem antioxidantes naturais ajudam a proteger o organismo humano do dano produzido por agentes oxidantes, como as substâncias químicas presentes nos alimentos e os poluentes ambientais, bem como contra a luz e na defesa biológica.



Notando a importância desses compostos, o presente trabalho tem como objetivo determinar os teores de flavonóides e antocianinas totais no morango orgânico, analisar as amostras e verificar se há diferenças nestes teores comparados ao morango convencional.

METODOLOGIA

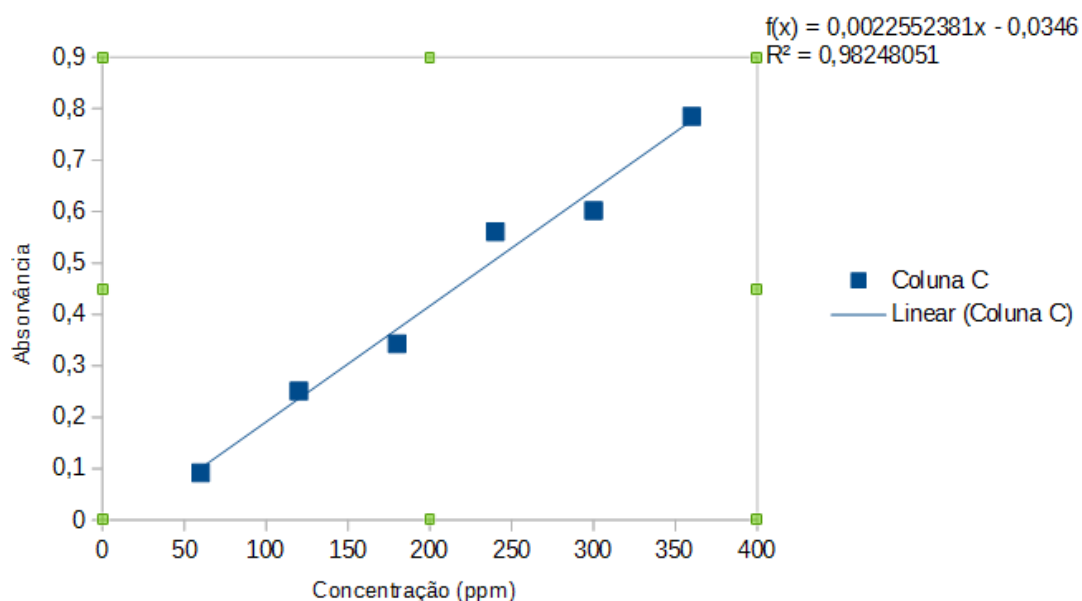
Amostras e preparo do extrato de morango

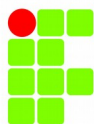
No total foram adquiridas no mercado local de Lages, duas amostras de morango convencional e duas de morango orgânico totalizando quatro amostras, onde as mesmas foram cultivadas em lugares diferentes, podendo ficar menos exposto a luz e em diferentes temperaturas. Após comprados os morangos foram imediatamente congelados e assim mantidos até a realização do preparo das amostras. Cerca de 5 morangos congelados foram triturados em liquidificador de marca WALITA. Rapidamente foram pesados 1 grama em tubo com tampa em seguida foi adicionado 10 mL de etanol 96 % (v/v) de marca TUPI. Foi então colocado em banho de ultrassom de marca CRISTÓFOLI (biossegurança) por 5 minutos para extração, agitado eventualmente. Os tubos foram centrifugados à 4000 rpm por 5 minutos e a fração líquida foi utilizada para análises. As amostras foram preparadas em duplicata e conservadas em congelador a -4°C .

Determinação de flavonóides totais

A determinação de flavonóides foi realizada de acordo com Zhishen (Zhishen, et al. 1999), com a modificação de que o resultado foi expresso em gramas de epicatequina por quilograma de morango íntegro, ou seja, ($\text{mg}_{\text{eq. Epicatequina}} / \text{kg de morango}$). Sendo transferido 1 mL do extrato de morango para tubo de aproximadamente 15 mL, seguido de adição de 4 mL de água deionizada e 300 μL de solução 5 % (m/v) de NaNO_2 deixando em repouso por 5 minutos. Posteriormente, foram adicionados 300 μL de solução aquosa 10 % de AlCl_3 (m/v), deixado em repouso por 5 minutos e adicionado 2 mL de solução 1 mol L^{-1} de NaOH . As medidas foram realizadas em espectrofotômetro SP 22 de UV visível de marca Biopectro em comprimento de onda de 510 nm. A quantificação nas amostras foi realizada pela construção de curva de calibração usando epicatequina como padrão.

Figura1: Curva de calibração de flavonóides tendo a epicatequina como padrão.





Determinação de antocianinas totais

A quantificação de antocianinas totais foi realizado pelo método de pH diferencial proposto por Giusti (2001). Neste método 0,5 mL de extrato foi diluído 1:14 em solução de pH 1,0 (0,2 mol L⁻¹ HCl) e em pH 4,5 solução acetato de sódio (1 mol L⁻¹), respectivamente. Após repouso de 15 minutos em ausência de luz as absorvâncias foram medidas em λ_{510} e λ_{700} nm respectivamente, para cada pH em espectrofotômetro SP 22 de UV visível de marca Biopectro. As absorvâncias foram medidas e os resultados expressos em: miligramas equivalentes de cianidina – 3 glicosídeo por quilograma de massa de morango íntegro, ou seja, (mg_{eq.} C3G / Kg).

A absorvância (A) para as amostras foram calculadas de acordo com a aplicação da Equação 1 e posteriormente as concentrações foram então calculadas aplicando a lei de Lambert-Beer ($A = \epsilon bc$). A absorvidade molar (ϵ) foi determinada experimentalmente utilizando padrão de C3G.

$$A = (A_{510} - A_{700})_{\text{pH } 1,0} - (A_{510} - A_{700})_{\text{pH } 4,5} \text{ (Equação 1)}$$

Onde: A é a absorvância da amostra diluída,
 A_{510} média da absorvância medida em λ_{510} , e
 A_{700} média das absorvâncias medidas em λ_{700} .

Uma vez que a concentração de pigmentos monoméricos pode ser calculada e expressada em cianidina-3-glicosídeo (PM: 449,2 g mol⁻¹ e ϵ : 26,900 L mol⁻¹ cm⁻¹). A Equação 2 foi aplicada.

$$\text{Antocianinas monoméricos (mg/100g)} = (A \times \text{PM} \times \text{FD} \times 100) / (\epsilon \times 1)$$

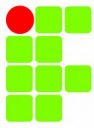
A = Absorvância; PM = peso molecular;
FD = Fator de diluição; ϵ = absorvidade molar;

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os teores de flavonóides e antocianinas totais em morangos orgânicos e convencionais, foram determinados pelo método de pH diferencial e por espectrofotometria UV visível nos comprimentos de onda 510 e 700nm. Os resultados obtidos, expressos na tabela abaixo, não foi observada diferenças significativas entre os morangos orgânicos e convencionais.

Tabela 1. Teores de flavonóides e antocianinas totais nos morangos analisados.

Amostras	Flavonóides Totais (mg de epicatequina/ Kg de morango)	Antocianinas (mg/Kg)
Orgânicos A	827,85 ± 198,25	270,0 ± 8,0
Orgânicos B	777,72 ± 134,08	292 ± 68,0
Convencional A	937,75 ± 56,02	285,0 ± 1,0
Convencional B	1.186,67 ± 190,33	130 ± 15,0



Dentre as amostras a que apresentou maior teor de flavonóides teve menor concentração de antocianinas totais, isso se deve a vários fatores, entre eles podemos citar o não amadurecimento completo do fruto, a pouca exposição a luz, a temperatura e o fato de que as amostras foram cultivadas em locais diferentes (COPETTI, CRISTIANE,2010). Nas Figuras 2 e 3 são apresentados os resultados da Tabela 1, respectivamente, para flavonóides totais e antocianinas totais

Figura 2. Concentração de Flavonóides Totais nas amostras de morango.

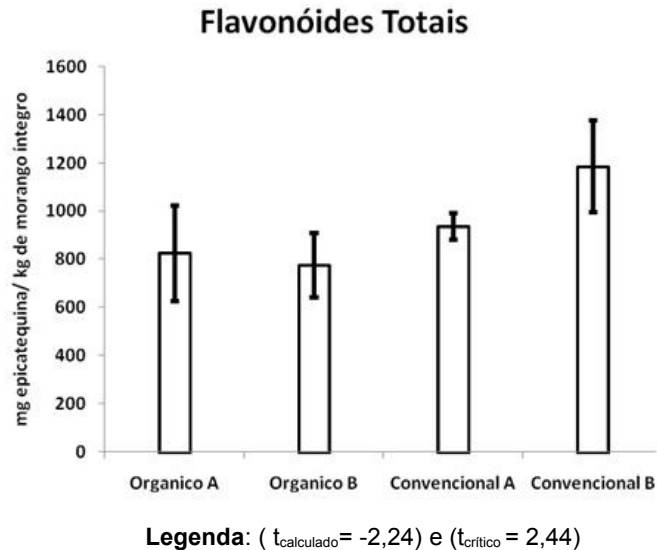
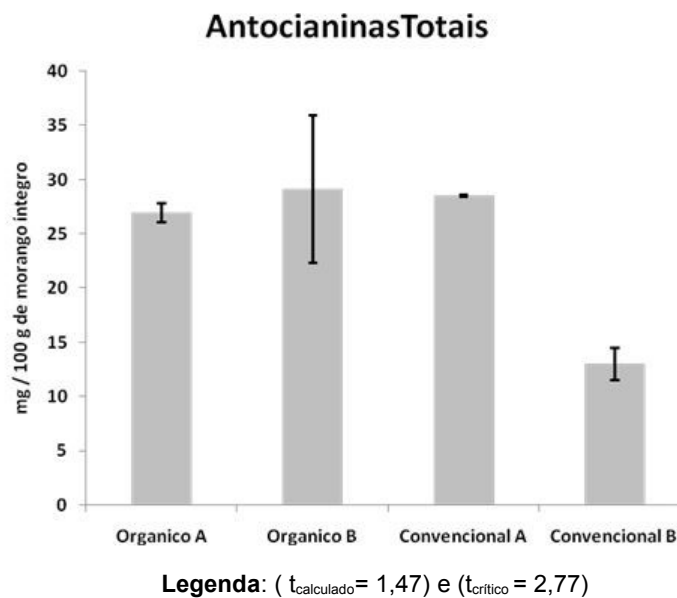
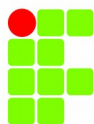


Figura 3. Concentração de AntocianinasTotais nas amostras de morango orgânico e convencional.





Foi realizado teste t para amostras presumindo variâncias diferentes comparando o tipo de cultivo orgânico versus convencional para teores de antocianinas e flavonóides totais para as amostras de morango.

Dados que os valores de $t_{\text{crítico}}$ foram superiores ao $t_{\text{calculado}}$, a hipótese nula de que os morangos convencional e orgânico são iguais foi mantida. Dessa forma, não há diferenças significativas para os morangos analisados da cultura orgânica em comparação com a convencional com limite de confiança de 95 %. Valores de $t_{\text{crítico}}$ e $t_{\text{calculado}}$ são apresentados nas legendas das Figuras 2 e 3.

CONCLUSÕES

No presente trabalho foi possível perceber que para as amostras analisadas, não houve diferenças significativas entre os morangos de cultivo orgânico e os de cultivo convencional quanto aos teores de flavonóides e antocianinas totais. Sendo assim, para resultados mais satisfatórios seria adequado realizar uma amostragem maior ou até mesmo cultivar o morango orgânico e convencional no mesmo solo e acompanhar seu desenvolvimento, sendo colhidos no mesmo período.

AGRADECIMENTOS

Gostaríamos de agradecer primeiramente a Deus pela vida, ao IFSC pelo ótimo ensino e por ter cedido os laboratórios para que fosse possível a realização deste trabalho de conclusão de curso. Ao Profº Dr. Marcel Piovezan especialmente, por ter aceitado nos orientar, nos ajudando sempre com muita paciência, nos transmitindo conhecimento ao decorrer de todo nosso trabalho e também pelo tempo que dedicou para que fosse possível concluí-lo. Aos demais professores do curso Técnico em Análises Químicas pelos conhecimentos a nós repassados. E a nossas famílias pelo incentivo e por ter nos ajudado dentro do possível.

REFERÊNCIAS

Alves, E. M., Cunha, W. L. A IMPORTÂNCIA DA AGRICULTURA ORGÂNICA NA VISÃO SOCIAL E ECOLÓGICA **Revista F@Pciência**, ApucaranaPR, ISSN 19842333, V.9, N. 1, P. 01 – 07, 2012.

Copetti, Cristiane. ATIVIDADE ANTIOXIDANTE UN VITRO E COMPOSTO FENOLICOS EM MORANGOS (Frgaria X ananassa duch): INFLUÊNCIA DA CULTIVAR, SISTEMA DE CULTIVO E PERÍODO DE COLHEITA, 2010 capítulo 3.

Giusti. M. M. Wrolstad, R. E. Characterization and measurement of Anthocyanins with UV visible spectroscopy. **Current Protocols in Food Analytical Chemistry**. 2001.

Quinato, E. E. Q., Degáspari, C. H. D., Vilela, R. M. V. Aspectos Nutricionais e Funcionais do Morango Visão Acadêmica, Curitiba, v.8, n.1, Jan. – Jun./2007.

Volp, A. C. P. V., Renhe, I. R. T. R., Barra, K. B., Stringueta, P. C. S. Flavonoides antocianinas: características e propriedades na nutrição e saúde. **Rev. Bras Nutr. Clin.** 2008.

Zhishen, J., T. Mengcheng and W. Jianming. The determination of flavonoid contents in mulberry and their scavenging effects on superoxide radicals. **Food Chemistry** 64(4), 1999.
