

Foto: Gisely Corrêa de Moura



## Compostos Bioativos e Atividade Antioxidante em Mirtilos Avaliados em Dois Ciclos Produtivos

Gisely Corrêa de Moura<sup>1</sup>  
Mariana da Rosa Fetter<sup>2</sup>  
Marina Couto Pereira<sup>3</sup>  
Márcia Vizzotto<sup>4</sup>  
Luís Eduardo Corrêa Antunes<sup>5</sup>

O mirtilheiro pertence à família *Ericaceae*, subfamília *Vaccinoideae* e gênero *Vaccinium* (DARNEL, 2006; RASEIRA, 2006; DRAPER, 2007). É uma espécie frutífera de clima temperado, cultivada na Europa, nos Estados Unidos e Canadá (BRAZELTON; STRIK, 2007). As cultivares do grupo rabbiteye estão melhor adaptadas às condições climáticas do Brasil devido à sua rusticidade e apresentam teores superiores de compostos fenólicos totais e também maior atividade antioxidante (VIZZOTTO et al, 2007).

Vários estudos têm sido conduzidos em diversos países, incentivando o consumo de mirtilo, pois este pode prevenir a ocorrência de doenças neurodegenerativas e o declínio cognitivo durante o envelhecimento, previne doenças relacionadas à visão, proporciona relaxamento das artérias, regulando a pressão do sangue auxiliando na redução de doenças cardiovasculares, podendo auxiliar no controle do diabetes mellitus (KALT et al, 2007). Apresenta alta capacidade antioxidante (CONNOR et al, 2002), atividade anticancerígena (RIMANDO et al, 2004), podendo prevenir problemas relacionados a doenças neurodegenerativas que incluem o Mal de Alzheimer, Mal

de Parkinson e esclerose lateral (RAMIREZ et al, 2005). Os benefícios obtidos com o consumo do mirtilo são, geralmente, atribuídos à presença de compostos bioativos tais como os polifenóis, ácido elágico, resveratrol e antocianinas (TAIZ; ZEIGER, 2004).

Esse trabalho foi realizado com o objetivo de avaliar a qualidade das frutas de mirtilo, em diferentes cultivares do grupo rabbiteye por duas safras nas condições edafoclimáticas da região sul do Rio Grande do Sul.

O experimento foi conduzido em um pomar comercial, localizado no município de Morro Redondo-RS, nas safras 2007/2008 e 2008/2009. Foram utilizados frutos de mirtilo das cultivares Climax, Bluegem e Powderblue (Figura 1), com 4 anos de idade, espaçamento de 1 m entre plantas por 3 m entre filas. Os tratamentos foram constituídos de um fatorial 3x2 (cultivares x anos). Os frutos foram homogeneizados dentro de cada tratamento, para retirada das amostras, armazenados em sacos de polietileno e congelados (-18 °C) até o momento da análise.

<sup>1</sup> Eng. Agrôn., doutoranda do curso de Agronomia, Universidade Federal de Pelotas, Pelotas, RS, giselycorrea@yahoo.com.br

<sup>2</sup> Graduanda em Ciências Biológicas, Universidade Católica de Pelotas, Pelotas, RS, marianafetter@hotmail.com.

<sup>3</sup> Nutricionista, mestranda da Ciência e Tecnologia de Alimentos, UFRGS, RS marinacoutopereira@hotmail.com

<sup>4</sup> Eng. Agrôn., PhD., pesquisadora Embrapa de Clima Temperado, Pelotas, RS, marcia.vizzotto@cpact.embrapa.br.

<sup>5</sup> Eng. Agrôn., D Sc., pesquisador da Embrapa de Clima Temperado, Pelotas, RS, luis.eduardo@cpact.embrapa.br.



Figura 1: 'Powderblue', 'Climax' e 'Bluegem', respectivamente.

**Antocianinas totais:** foram quantificadas através da metodologia adaptada de Fuleki e Francis (1968). Cinco gramas de cada amostra foram pesados e homogenizado em ultra turrax com 15 g de solvente (85:15 95% etanol para 1,5 N HCl), em velocidade máxima até consistência uniforme. Após um período de maceração sob baixa temperatura, as amostras foram centrifugadas por 15 minutos a 15 mil rpm. Dois gramas do sobrenadante foram colocados em balão volumétrico e foi adicionado solvente até o volume final de 100 mL. Após uma partição com hexano para a retirada de carotenoides, as leituras foram feitas em espectrofotômetro, previamente zerado com o solvente extrator. A absorbância foi lida em cubeta de quartzo a 535 nm e 700 nm. Quando a absorbância foi superior a 0,7, as amostras foram diluídas e as leituras repetidas. Uma curva padrão para cianidina-3-glicosídeo foi construída.

**Compostos fenólicos totais:** 5 g de amostra foram homogenizados em ultra-turrax com 15 mL de metanol e centrifugados por 20 min a 15 mil rpm em centrífuga refrigerada a 4 °C. Uma alíquota de 250  $\mu$ L do sobrenadante da amostra foi diluída em 4 mL de água ultrafiltrada. Simultaneamente, um controle foi preparado contendo 250  $\mu$ L de metanol. Cada amostra e o controle foram combinados com 250  $\mu$ L do reagente Folin-Ciocalteau (SWAIN; HILLIS, 1959) 0,25 N e reagiram por 3 min antes de adicionar 500  $\mu$ L de  $\text{Na}_2\text{CO}_3$  1 N. As misturas foram incubadas por 2h a temperatura ambiente, e a absorbância foi medida a 725 nm. O espectrofotômetro foi zerado usando-se o controle e as medidas feitas com uma cubeta de quartzo. Toda vez que a absorbância foi superior a 0,6 unidades de absorbância (UA), as amostras foram diluídas e reanalisadas. Uma curva padrão para o ácido clorogênico foi construída.

**Atividade antioxidante:** 5 g de amostra foram homogenizados em ultra-turrax com 15 mL de metanol e centrifugados por 20 min a 15 mil rpm em centrífuga

refrigerada a 4 °C. Uma alíquota de 200  $\mu$ L do sobrenadante da amostra foi combinada com 3800  $\mu$ L da solução de DPPH (2,2-difenil-1-picrilhidrazil) (BRAND-WILLIAMS et al., 1995), diluída de uma solução concentrada em metanol até uma absorbância de  $1,1 \pm 0,02$  UA a 515 nm. Um controle foi preparado simultaneamente com 200  $\mu$ L de metanol. As amostras e o controle reagiram por 24h (ou até a reação estar estabilizada). O espectrofotômetro foi zerado com metanol. A absorbância foi medida com uma cubeta de quartzo a 515 nm. Quando a absorbância foi menor que 0,2 UA, as amostras foram diluídas em metanol e reanalisadas. Uma curva padrão foi construída para o TROLOX (ácido 6-hidroxi-2,5,7,8-tetrametilcroman-2-carboxílico).

Os dados obtidos foram submetidos à análise de variância e a comparação de médias foi efetuada pelo Teste Tukey em nível de 5% de probabilidade. As análises estatísticas foram executadas com auxílio do programa Winstat, versão 2.0.

Houve interação significativa entre ano e cultivar para as três variáveis estudadas.

O maior teor de antocianinas na safra 2007/2008 foi observado na cultivar Climax. Na safra 2008/2009, os maiores teores foram observados na 'Powderblue'.

O teor de compostos fenólicos foi maior para as cultivares Climax e Bluegem na safra 2007/2008 e, na safra seguinte, foi maior na 'Bluegem' e 'Powderblue', sendo superior na segunda safra para todas as cultivares.

A atividade antioxidante não apresentou diferença significativa entre as cultivares na primeira safra, porém na segunda safra foi superior para as cultivares Climax a Bluegem. Cabe ressaltar que na safra 2008/2009 a atividade antioxidante foi quase o dobro para 'Climax' e 'Bluegem', quando comparada com a primeira safra, não diferindo para a 'Powderblue'.

**Tabela 1 – Teor de antocianinas, atividade antioxidante e compostos fenólicos em mirtilos. Embrapa Clima Temperado, Pelotas, 2009.**

Cv/safra	Antocianinas <sup>1</sup>		Compostos fenólicos <sup>2</sup>		Atividade antioxidante <sup>3</sup>	
	2007/2008	2008/2009	2007/2008	2008/2009	2007/2008	2008/2009
Climax	571,0±23,3aA	529,9±108,2bA	596,4±16,9abB	789,5±11,0bA	5671,8±395,2aB	10104,2±176,2aA
Bluegem	421,2±43,9bA	301,1±5,29cB	612,6±61,3aB	920,1±51,7aA	5311,9±152,3aB	8644,6±1805,9aA
Powderblue	310,2±8,4cB	745,9±17,3aA	487,7±42,1bB	1001,3±17,6aA	4777,0±263,2aA	5918,6±24,2bA
C.V. (%)	10,3		7,7		13,3	

Médias de três repetições±desvio padrão. <sup>1</sup>Antocianinas totais expressa s em mg equivalente cianidina -3-glicosídeo/100 g peso fresco  
<sup>2</sup>Compostos f enólicos totais expreso s em mg do equivalente ácido clorogênico/100 g peso fresco e <sup>3</sup>Atividade antioxidante total expressa em µg equivalente trolox/g peso fresco. Médias seguidas de mesma letra minúscula não diferem entre si na coluna e médias seguidas de mesma letra maiúsculas não diferem entre si na na linha

A ampla variação no teor total de antocianinas em cultivares de mirtilos, também foi observada por Ristow et al (2004) e em diferentes partes do fruto (PERCIVAL, 2006), podendo também ser influenciada pelo estágio de maturação (BALLINGER; KUSHMAN, 1970).

Moyer et al. (2002) obtiveram 242 mg 100 g<sup>-1</sup> fruto, ao avaliar o teor de antocianinas em frutos de mirtilo da cultivar Bluegem. Esses resultados são inferiores as médias obtidas nos dois anos, porém Severo et al. (2009) obtiveram uma média de 716 mg equivalente cianidina-3-glicosídeo/100 g amostra fresca na mesma cultivar, valores mais próximos aos apresentados na Tabela 1.

Severo et al. (2009), ao avaliar os compostos fenólicos em frutos de mirtilos da cultivar Bluegem, obtiveram 716 mg equivalente cianidina-3-glicosídeo/100 g amostra fresca, o que é semelhante à média encontrada nas duas safras.

Há influência da cultivar e do ano no teor de antocianinas, compostos fenólicos e atividade antioxidante.

## REFERÊNCIAS

BALLINGER, W. E.; KUSHMAN, L. J. Relationship of stage of ripeness to composition and keeping quality of highbush blueberries. **Journal American Society Horticultural Science**, Alexandria, v. 95, p. 239-242, 1970

BRAND-WILLIAMS, W.; CUVÉLIER, M. E.; BERSET, C. Use of a free radical method to evaluate antioxidant

activity. **Lebensmittel-Wissenschaft & Technologie**, London, v. 28, p. 25-30, 1995.

BRAZELTON, D.; STRIK, B. C. Perspective on the U.S. and Global Blueberry industry. **Journal of the American Pomological Society**, Massashuttes, v. 61, n. 3, p. 144-147, 2007.

CONNOR, A. M. et. al. Changes in fruit antioxidant activity among blueberry cultivars during cold-temperature storage. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, Washington, v. 50, p. 893-898, 2002.

DARNELL, R. L. Blueberry botany/environmental physiology. In: CHILDERS, N. F.; LYRENE, P. M. **Blueberries for growers, gardeners, promoters**. Florida: E.O.Painter Printing Company, 2006. p. 5-13.

DRAPER, A. Blueberry breeding: improving the unwild blueberry. **Journal American Pomological Society**, Massachusetts, v. 61, n. 3, p. 140-143, 2007.

FULEKI, T.; FRANCIS, F. J. Quantitative methods for anthocyanins 1. Extraction and determination of total anthocyanin in cranberries. **Journal of Food Science**. Chicago, v. 33, p. 72-77, 1968.

KALT, W.; JOSEPH, J. A.; SHUKITT-HALE, B. Blueberries and human health: a review of current research. **Journal American Pomological Society**, Massachusetts. v. 61, n. 3, p. 151-160, 2007.

MOYER, R. A.; HUMMER, K. E.; FINN, C. E.; FREI, B.; WROSTAD, R. E. Anthocyanins, phenolics, and antioxidant capacity in diverse small fruits: *Vaccinium*, *Rubus*, and *Ribes*. **Journal of Agriculture Food Chemistry**, Washington, v. 50, p. 519-525, 2002.

PERCIVAL, D. Levels and distribution of anthocyanins,

proanthocyanidins, flavonols, and hydroxycinnamic acids in *Vaccinium angustifolium* Aiton cv. 'Fundy'. In: Proceedings on Vaccinium Culture, **8 (Ed) FONSECA, L. L. et al. Acta Horticulturae**, Wageningen, v. 715, p. 595-601, 2006.

RAMIREZ, M. R.; IZQUIERDO, I.; RASEIRA, M. C. B.; ZUANAZZI, J. A.; BARROS, D.; HENRIQUES, A. T. Effect of lyophilised Vaccinium berries on memory, anxiety and locomotion in adult rats. **Pharmacological Research**, Amsterdam, v. 52, p. 457-462, 2005.

RASEIRA, M. C. B. Descrição da planta, melhoramento genético e cultivares. In: RASEIRA, M. C. B.; ANTUNES, L. E. C. **Cultivo do Mirtilo (*Vaccinium* spp)**. Pelotas: Embrapa Clima Temperado, 2006. p. 21-43 (Embrapa Clima Temperado. Sistemas de Produção, 8).

RIMANDO, A. M. et. al. Resveratrol, pterostilbene, and piceatannol in vaccinium. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, Washington, v. 52, n. 7, p. 4713-4719, 2004.

RISTOW, N. C.; FRANCHINI, E. R.; COUTINHO, E. F.; CANTILLANO, F. R. F.; MACHADO, N. P.; MALGARIN, M. B. Associação de refrigeração com oxigênio ionizado na conservação pós-colheita de mirilo cv. SIMPÓSIO

NACIONAL DO MORANGO, 2; ENCONTRO DE PEQUENAS FRUTAS E FRUTAS NATIVAS DO MERCOSUL, 1. In: **Resumos...** p. 288-293. 2004.

SEVERO, J. et. al. Avaliação de compostos fenólicos, antocianinas, vitamina C e capacidade antioxidante em mirtilo armazenado em atmosfera controlada. **Brazilian Journal of Food Technology**, São Carlos, v. 11, n. especial, p.65-70, 2009.

SWAIN, T.; HILLIS, W. E. The phenolic constituents of *Prunus domestica* L.- The quantitative analysis of phenolic constituents. **Journal of Science and Food Agriculture**, v. 10, p. 63-68, 1959.

TAIZ, L.; ZEIGER, E. **Fisiologia vegetal**. 3. ed. Porto Alegre: Artmed, 2004. 719 p.

VIZZOTTO, M.; PEREIRA, M. C.; GULARTE, J. P. Compostos fenólicos e atividade antioxidante de cultivares e seleções de mirtilos dos grupos hihbush (*Vaccinium corymbosum* L.) e rabbiteye (*V. ashei* Read) com potencial pra produção no Rio Grande do Sul. In: SIMPÓSIO LATINO AMERICANO DE CIÊNCIA DE ALIMENTOS, 7. **Anais...** Campinas, 2007.

### Comunicado Técnico, 267



Exemplares desta edição podem ser adquiridos na:

**Embrapa Clima Temperado**

**Endereço:** Caixa Postal 403

**Fone/fax:** (53) 3275 8199

**E-mail:** sac@cpact.embrapa.br

1ª edição

1ª impressão 2011: 50 exemplares

### Comitê de publicações

**Presidente:** Ariano Martins de Magalhães Júnior

**Secretária- Executiva:** Joseane Mary Lopes Garcia

**Membros:** Márcia Vizzotto, Ana Paula Schneid Afonso, Giovani Theisen, Luis Antônio Suita de Castro, Flávio Luiz Carpena Carvalho, Christiane Rodrigues Congro Bertoldi, Regina das Graças Vasconcelos dos Santos

### Expediente

**Supervisor editorial:** Antônio Luiz Oliveira Heberlé

**Revisão de texto:** Bárbara Chevallier Cosenza

**Revisão bibliográfica:** Fábio Lima Cordeiro

**Editoração eletrônica:** Camila Peres (estagiária)