

EFEITO DO PROCESSAMENTO E ARMAZENAMENTO EM COMPOSTOS FENÓLICOS PRESENTES EM FRUTAS E HORTALIÇAS

EFFECT OF PROCESSING AND STORAGE ON PHENOLIC COMPOUNDS PRESENT IN FRUITS AND VEGETABLES

Willian Moreira Machado*

Alex Dias Pereira*

Márcia Venâncio Marcon**

RESUMO

Os antioxidantes apresentam um papel importante na indústria de alimentos como conservante e na prevenção de doenças associadas aos radicais livres. A indústria alimentícia encontra nos compostos fenólicos, e mais particularmente nas antocianinas, um importante substituinte aos corantes artificiais, atendendo um público cada vez mais disposto a consumir alimentos isentos de produtos químicos sintéticos, dando preferência ao natural e aos saudáveis. Foram analisadas 6 frutas (amora preta, ameixa preta, nectarina, kiwi, manga, morango) e 3 hortaliças (repolho roxo, alface roxa e berinjela) quanto ao seu conteúdo de fenóis totais e antocianinas. Avaliou-se a influência da temperatura e tempo de aquecimento, mudança de pH e ciclo gelo/degelo sobre o teor destes compostos. Para determinação dos polifenóis, utilizou-se o método de Folin-Ciocalteu e se verificou que o morango e a alface roxa foram os que apresentaram os maiores valores. Testando o efeito do processamento, as amostras foram submetidas à elevação de temperatura durante tempos pré-determinados. Para a maior parte das amostras houve uma correlação positiva entre a temperatura e o tempo de exposição. Submetendo as frutas e hortaliças a mudanças de pH foram observadas modificações nas colorações dos compostos fenólicos. As amostras de frutas e hortaliças foram submetidas a ciclos de gelo e degelo, apresentando diminuição dos teores de fenóis totais durante os ciclos. Para determinação de antocianinas foi utilizado etanol acidificado para extração, e o repolho roxo foi o que apresentou maior concentração de antocianinas. Também se determinaram as antocianinas frente à avaliação de temperatura, na qual se encontrou uma correlação positiva entre a temperatura e o tempo de exposição. As frutas e hortaliças foram submetidas à mudança de pH em que se observaram modificações nas colorações dos pigmentos antociânicos. No pH ácido, as hortaliças apresentaram maiores teores de antocianinas. Na realização dos ciclos de gelo/degelo, a maior parte das amostras manteve ou aumentou os níveis de antocianinas.

Palavras-chave: Antioxidantes. Compostos fenólicos. Antocianinas. Corantes.

* Universidade Estadual de Ponta Grossa, Departamento de Ciências Farmacêuticas. E-mail: willian_machado@hotmail.com

** Universidade Estadual de Ponta Grossa, Departamento de Análises Clínicas.

ABSTRACT

Antioxidants have an important role in the food industry as a preservative and in the prevention of diseases associated with free radicals. The food industry found in phenolic compounds, and more particularly in anthocyanins, an important substitute to artificial dyes, serving an audience increasingly willing to consume food without synthetic chemicals, giving preference to the natural and healthy. Six fruits (blackberry, plum, nectarine, kiwi, mango, strawberry) and 3 vegetables (purple cabbage, lettuce and eggplant) were analyzed concerning their content of total phenols and anthocyanins. We evaluated the influence of temperature and heating time, pH change and freeze/thaw cycle on the content of these compounds. For determination of polyphenols, the Folin-Ciocalteu method was used and the strawberry and the purple lettuce were those with the highest values. Testing the effects of the processing, samples were subjected to temperature elevation during predetermined times. For most samples there was a positive correlation between temperature and exposure time. Upon submitting fruits and vegetables to changes in pH, changes in the color of phenolic compounds were observed. The samples of fruits and vegetables were subjected to cycles of freezing and thawing, showing decrease of total phenols during cycles. For determination of anthocyanins, acidified ethanol was used for extraction, and the purple cabbage showed the highest concentration of anthocyanins. The anthocyanins were also determined by temperature evaluation, in which a positive correlation between temperature and exposure time was found. Fruits and vegetables were subjected to pH change, in which changes in the color of anthocyanins pigments were observed. In acidic pH, vegetables presented higher levels of anthocyanins. In carrying out cycles of freezing/thawing, most of the samples kept stable or increased the levels of anthocyanins.

Keywords: Antioxidants. Phenolic compounds. Anthocyanins. Dyes.

INTRODUÇÃO

Os compostos fenólicos são metabólitos secundários sintetizados por plantas durante o desenvolvimento normal e em resposta a condições de estresse tais como infecções, ferimentos, radiação ultravioleta (UV) (BALASUNDRAM, N.; SUNDRAM, K.; SAMMAN, S., 2006). Estes compostos podem atuar como antioxidantes, contribuindo na pigmentação, atraindo polinizadores e atuando como agentes protetores contra luz UV e patógenos (WROLSTAD, R. E.; DURST, R. W.; LEE, J., 2005). Em alimentos, os fenólicos podem contribuir para o amargor, adstringência, cor, *flavor*, odor e estabilidade oxidativa (CASTAÑEDA-OVANDO, A., et al., 2009).

Os alimentos, principalmente as frutas, verduras e legumes, contêm agentes antioxidantes, como as vitaminas C, E e A, a clorofilina, os flavonoides, carotenoides, curcumina e outros, capazes de restringir

a propagação das reações em cadeia e as lesões induzidas pelos radicais livres (BOULTON, R., 2001).

Um antioxidante pode ser definido como uma substância que, em baixa concentração em relação a um determinado substrato, retarda ou previne a oxidação do substrato oxidável (HALLIWEL, 2003). Quando o mecanismo de ação for através de sua reação com o radical livre, o novo radical formado deve ser estável e incapaz de propagar a reação (SHAHIDI *et al.*, 1992).

Os flavonoides constituem o maior grupo de fenólicos de plantas, representando mais da metade dos compostos fenólicos que ocorrem naturalmente (BALASUNDRAM, SUNDRAM e SAMMAN, 2006). São polifenóis comuns em dietas do mundo inteiro e ocorrem quase que exclusivamente em plantas superiores, nas quais são responsáveis pela coloração das flores e dos frutos. Existem também relatos de sua presença em algumas algas e fungos (ZUANAZZI & MONTANHA, 2003). Dividem-se

em seis classes: antocianinas, flavononas, flavonas, flavonóis, isoflavonas (HOLLMAN & KATAN, 1999).

As antocianinas são os principais pigmentos de plantas vasculares (CASTANEDA-OVANDO, 2009) e são responsáveis pelas cores azul, púrpura e vermelha de flores, frutas, folhas e órgãos de armazenamento (BRIDLE & TIMBERLAKE, 1982). O potencial antioxidante das antocianinas pode chegar a ser duas vezes maior que outros antioxidantes disponíveis comercialmente, como a vitamina E, e apresentar melhor atividade que o butilhidroxianisol (BHA) e butilhidroxitolueno (BHT) (ESPÍN *et al.*, 2000). Além disso, são fortemente polares e podem substituir, com vantagem, antioxidantes lipossolúveis como a vitamina E em alguns casos (RAMIREZ-TORTOZA *et al.*, 2001).

Embora os antioxidantes sintéticos sejam amplamente utilizados pela indústria alimentícia, existem alguns argumentos com relação à segurança e efeitos adversos destas substâncias quando usadas como aditivos alimentares. Enquanto isso, os antioxidantes naturais como os polifenóis podem apresentar papéis importantes na conservação dos alimentos e na prevenção de doenças associadas aos radicais livres (SOARES, ANDREAZZA e SALVADOR, 2003).

Os ácidos fenólicos e os flavonoides ocorrem nos alimentos em quantidades aproximadas de 1 – 3 mg.kg⁻¹ de alimento (ÂNGELO, P. M.; JORGE, N., 2007). A avaliação da ingestão desses compostos é dificultada pelo grande número de tipos de fenólicos e por diversos fatores que afetam seu conteúdo, como: espécie e cultivar, sistema de cultivo, localização geográfica, estado de maturação, partes avaliadas e condições de armazenamento (ZUANAZZI, J. A. S.; MONTANHA, J. A., 2003).

O consumo cada vez mais frequente de alimentos industrializados desperta o interesse na qualidade desses produtos, e a influência do processamento ainda são pouco estudados. A indústria alimentícia encontra nos compostos fenólicos, mais particularmente nas antocianinas, um importante substituinte aos corantes artificiais, atendendo um público cada vez mais disposto a consumir alimentos isentos de produtos químicos sintéticos, dando preferência aos naturais e aos saudáveis (POZO-INSFRAN, BRENES, C. H.; TALCOTT, 2004). Além da preferência por parte dos consumidores, restrições legais à utiliza-

ção de determinados corantes sintéticos, como os do tipo *azo*, incentivam pesquisas que avaliam corantes naturais a serem empregados em alimentos; outra vantagem é que não possuem limite máximo para aplicação em alimentos e cosméticos (BRASIL, RDC nº 34, 09/03/2001). Bobbio *et al.* (1992) sugerem o uso de frutas e vegetais como fonte para extração de antocianinas, devido ao elevado teor, em geral, deste pigmento e ausência de toxicidade. Espín *et al.* (2000) destacam a utilização de antocianinas como corantes naturais em alimentos, sendo que esse interesse é também influenciado pelas observações promissoras de seu potencial benéfico à saúde decorrente da ação antioxidante.

São poucas as fontes de antocianinas comercialmente utilizadas. Apesar de existirem, de acordo com Kong (2003), aproximadamente 400 tipos de antocianinas presentes em diversas plantas, como uva, cereja, morango, amora, maçã, azeitona, figo, marmelo, jabuticaba, cacau, repolho roxo, rabanete, berinjela, feijão, entre outras, poucas delas apresentam-se como fonte comercial desse pigmento (MALACRIDA & MOTTA, 2006).

As novas perspectivas do uso de antocianinas, principalmente na indústria alimentícia, ilustram a importância dos estudos analíticos destes pigmentos e seu comportamento frente a mudanças de pH, temperatura e demais decorrentes do processamento de alimentos. Neste pensamento, o objetivo deste trabalho é determinar a influência do processamento e do armazenamento nos compostos fenólicos, presentes em frutas e hortaliças comumente consumidas pela população.

METODOLOGIA

Amostras e seleção

Foram utilizadas amostras de seis frutas e três hortaliças adquiridas no mercado local, com exceção da alface, que foi adquirida na horta do restaurante universitário, e da amora, que foi coletada em uma chácara local. Foram usadas amostras dos seguintes frutos e hortaliças: nectarina (*prunus persica*), ameixa preta (*prunus domestica*), manga (*mangifera indica*), amora preta (*morus nigra*), kiwi (*actinidia deliciosa* e *actinidia chinensis*), morango (*fragaria vesca*), alface roxa (*lactuca sativa*), berinjela (*solanum melongena*) e

repolho roxo (*brassica oleracea L.*). Pelo fato de não estar na época de sua colheita quando da realização do trabalho, a amostra da amora foi congelada no mês de abril, sendo descongelada pouco tempo antes das análises feitas neste estudo.

Processamento inicial das frutas e hortaliças

O processamento foi realizado utilizando 50 g de amostra, juntamente com 50 mL de água destilada (diluição 1:2) e, então, triturada em multiprocessador comum (Walita) até a obtenção de um triturado homogêneo, o qual foi denominado de recém-processado (RP). Quando necessário, houve retirada de casca (kiwi), sementes (nectarina, manga e ameixa) e folhas ou pedúnculos, dependendo do tipo de amostra.

As amostras recém-processadas foram ali-quotadas para as determinações de fenóis totais e antocianinas antes e após exposição a diferentes condições que simulam o processamento e armazenamento de alimentos (elevação da temperatura, mudança de pH e ciclo gelo/degelo).

Determinação do conteúdo de fenólicos totais

Uma alíquota de cada uma das amostras recém-processadas foi centrifugada (a 2500 rpm, por 10 minutos) e utilizou-se, do sobrenadante obtido, 0,1 mL para a determinação dos fenólicos totais. Adicionou-se uma porção de 8,4 mL de água destilada e, em seguida, 0,5 mL do reagente de Folin-Ciocalteu. Transcorridos três minutos, foi adicionado 1 mL de solução de carbonato de sódio a 21% e, então, feita uma homogeneização vigorosa de cada tubo. Após repouso de 1 hora, as absorbâncias das amostras foram lidas em 720 nm e sua concentração obtida por meio da equação da reta da curva de calibração obtida com o ácido gálico como padrão (HORWITZ, 1980).

Determinação do conteúdo de antocianinas

As antocianinas foram determinadas através do método de Lees & Francis (1971). Utilizando-se como amostra as frutas e hortaliças recém-processadas, foram pesadas 5 g de cada uma das amostras em recipiente plástico identificado e, então, adicionados

5 mL de solução extratora (etanol acidificado) para antocianinas (85/15 v/v de álcool etílico 95% e HCl 1,5 N). Os recipientes foram cobertos com papel filme e levados à geladeira por um período de 24 horas para maceração e extração das antocianinas. Após esse tempo, os macerados obtidos foram filtrados em papel de filtro Whatman para balão volumétrico de 25 mL. O macerado foi lavado três vezes com 5 mL de solução extratora. Ao final da filtração, completou-se o balão com solução extratora para 25 mL. Em seguida, o extrato assim obtido foi transferido para um recipiente plástico identificado para cada amostra.

O extrato obtido foi diluído com a solução extratora, a fim de se obter uma leitura dentro da faixa de linearidade. As soluções diluídas foram deixadas em repouso ao abrigo da luz e em temperatura ambiente por duas horas. Na sequência, procedeu-se a leitura das absorbâncias no comprimento de onda máximo de 535 nm em espectrofotômetro usando água destilada como branco.

Cinética de pH

Para avaliar a influência da mudança de pH sobre o conteúdo de fenóis totais e de antocianinas utilizou-se a cinética de pH, onde as frutas e hortaliças recém-processadas foram submetidas a variações do mesmo (pH 2, 4, 6, 8 e 10). Para tal, foram usadas duas soluções, uma ácida (ácido cítrico a 10%) e outra alcalina (hidróxido de sódio a 10%). As amostras foram dispostas em recipientes plásticos identificados com o nome da fruta ou hortaliça e o pH ao qual seria submetida cada amostra. Utilizaram-se dois recipientes para cada uma das amostras, um deles para a determinação de fenóis totais e o outro para a determinação das antocianinas.

Após acertar os valores de pH das amostras (2, 4, 6, 8 e 10, para cada uma das frutas e hortaliças), procedeu-se a determinação dos fenóis totais e de antocianinas de acordo com os métodos descritos anteriormente - Horwitz (1980) para fenóis totais e Lees & Francis (1971) para as antocianinas.

Elevação da temperatura e tempo de exposição

Para se avaliar a influência do aquecimento (temperatura e tempo de aquecimento) sobre o conteúdo de

fenóis totais e de antocianinas, empregou-se o aquecimento das frutas e hortaliças recém-processadas nas temperaturas de 50, 75 e 100 °C e nos tempos de 1, 2, 5 e 10 minutos para cada uma dessas temperaturas. As amostras foram colocadas em um béquer para serem aquecidas em um bico de Bunsen. Decorridos esses tempos, as amostras foram resfriadas e utilizadas para a determinação de fenóis totais e de antocianinas de acordo com os métodos descritos anteriormente - Horwitz (1980) para fenóis totais e Lees & Francis (1971) para as antocianinas.

Ciclo de gelo e degelo

Logo após o processamento das frutas e hortaliças, uma alíquota de cada uma das amostras foi congelada (em béquer) para se avaliar a influência do gelo e degelo sobre o conteúdo de fenóis totais e de antocianinas.

Foram realizados três ciclos de gelo e degelo. Depois do congelamento, as amostras eram deixa-

das na geladeira, por 24 horas, para descongelarem. A cada ciclo, foi realizada a determinação dos fenóis totais e de antocianinas, de acordo com os métodos descritos anteriormente - Horwitz (1980) para fenóis totais e Lees & Francis (1971) para as antocianinas.

Resultados e discussões

Para determinação dos polifenóis totais utilizou-se o método de Folin-Ciocalteu, cujo mecanismo básico é uma reação de oxiredução com formação de um produto de coloração azul intensa, mensurada em espectrofotômetro na região do visível (ROGINSK; LISSI, 2005). Das amostras em estudo, a nectarina apresentou o menor conteúdo de fenólicos (28,78 mg/100g amostra), enquanto que o morango e a alface roxa apresentaram valores de polifenóis totais superiores a 100,0 mg/100g amostra. O conteúdo médio de fenólicos totais nas frutas e hortaliças em estudo, recém-processadas, está indicado na Tabela 1.

Tabela 1 - Compostos fenólicos totais extraídos de frutas e hortaliças (mg/100g amostra)

Fruta ou Hortaliça	Fenólicos totais
Nectarina	28,78 ± 1,28
Ameixa preta	57,67 ± 2,57
Morango	107,30 ± 5,13
Repolho roxo	75,45 ± 1,28
Berinjela	85,08 ± 3,39
Manga	34,71 ± 2,22
Kiwi	98,41 ± 3,39
Amora preta	92,48 ± 2,22
Alface roxa	102,85 ± 1,28

Cieslik, Greda e Adamus (2006), em um estudo realizado com várias frutas e hortaliças, obtiveram maiores teores de compostos fenólicos totais do que os encontrados em nosso estudo para kiwi (173,0 mg/100g), nectarina (57,0 mg/100g) e repolho roxo (108 mg/100g). Esses resultados se devem provavelmente às diferentes condições de cultivo e cultivares utilizadas nos estudos, bem como as metodologias de extração. Lima et al. (2000) estudaram seis seleções de acerola e observaram que os teores de fenólicos totais variaram de 14,06 a 50,98 mg/100g de amostra, demonstrando a influência das condições do solo e do clima e também da cultivar,

na composição de um mesmo tipo de fruto. Outros estudos com frutos, como morango, framboesa, romã e mirtilo, têm demonstrado que podem ocorrer modificações na composição e teores de bioativos, provenientes de diferentes condições de cultivo (OZGEN, 2008).

Com objetivo de testar os efeitos do processamento sobre os componentes bioativos de frutas e hortaliças, as amostras foram submetidas à elevação de temperatura durante tempos pré-determinados e, na sequência, tiveram seus conteúdos de fenólicos quantificados. Os resultados obtidos são apresentados na Tabela 2.

Tabela 2 - Teor de compostos fenólicos totais extraídos de frutas e hortaliças (mg/100g amostra) e submetidos à temperatura de 50, 75 e 100 °C durante 1, 2, 5 e 10 minutos.

	Tempo	1 min	2 min	5 min	10 min
Amostra	Temperatura				
Nectarina	50 °C	8,04±1,43	8,04±1,50	21,37±1,54	16,24±1,42
	75 °C	41,37±1,33	34,71±1,39	59,15±1,50	74,71±1,42
	100 °C	16,93±1,37	21,37±1,44	19,15±1,44	21,37±1,46
Ameixa preta	50 °C	23,60±1,45	41,37±1,40	48,04±1,43	50,26±1,48
	75 °C	41,37±1,44	90,26±1,47	70,26±1,51	48,04±1,48
	100 °C	114,71±1,40	141,37±1,54	125,82±1,44	145,82±1,46
Morango	50 °C	99,15±1,41	92,48±1,45	92,48±1,43	79,15±1,44
	75 °C	94,71±1,49	79,15±1,45	72,48±1,42	116,93±1,48
	100 °C	156,93±1,45	156,93±1,43	156,93±1,43	168,04±1,46
Repolho roxo	50 °C	76,93±1,48	74,71±1,48	70,26±1,46	81,37±1,42
	75 °C	65,82±1,47	94,71±1,48	92,48±1,49	128,04±1,42
	100 °C	103,60±1,47	90,26±1,44	108,04±1,48	101,37±1,48
Berinjela	50 °C	81,37±1,46	81,37±1,43	41,37±1,49	89,15±1,52
	75 °C	78,22±1,44	63,60±1,43	110,26±1,50	116,93±1,44
	100 °C	72,48±1,43	72,48±1,41	88,04±1,50	88,04±1,46
Manga	50 °C	14,71±1,42	19,15±1,45	19,15±1,52	32,48±1,46
	75 °C	21,37±1,42	52,48±1,45	16,93±1,47	23,60±1,48
	100 °C	21,37±1,46	19,15±1,49	21,37±1,45	16,93±1,49
Kiwi	50 °C	92,48±1,45	85,82±1,434	76,93±1,44	72,48±1,48
	75 °C	76,93±1,46	92,48±1,46	56,93±1,42	121,37±1,52
	100 °C	101,37±1,44	99,15±1,42	101,37±1,43	101,37±1,55
Amora preta	50 °C	88,04±1,48	90,26±1,44	99,15±1,48	99,15±1,51
	75 °C	101,37±1,48	99,15±1,46	103,6±1,48	103,60±1,43
	100 °C	116,93±1,44	128,04±1,49	114,71±1,46	116,93±1,43
Alface roxa	50 °C	99,15±1,48	103,60±1,45	110,26±1,41	110,26±1,41
	75 °C	128,04±1,42	125,82±1,55	125,82±1,44	125,82±1,44
	100 °C	128,04±1,49	128,04±1,51	128,04±1,43	128,04±1,48

Para a maior parte das amostras houve uma correlação positiva entre o tempo de exposição das amostras e a temperatura de 50 °C. Isto ocorre porque o aumento da temperatura auxilia na extração dos pigmentos e também na sua transferência da casca para a polpa, quando for o caso (FALCÃO *et al.*, 2007).

Com a elevação da temperatura para 75 °C também foi observado acréscimo na extração dos compostos fenólicos para algumas frutas e hortaliças. A nectarina, o repolho roxo, a berinjela e o kiwi apresentaram maiores teores de compostos fenólicos totais a 75 °C durante 10 minutos.

As amostras ainda foram submetidas a 100 °C e foi observado maior conteúdo e, em geral, manutenção da concentração alta de compostos fenólicos mesmo com o aumento do tempo de exposição. Esse fato deve-se à maior extração dos pigmentos em temperaturas mais elevadas, bem como pelo fato de a temperatura de 100 °C auxiliar na inativação de enzimas que degradam os compostos fenólicos, preservando-os. Ameixa preta, morango e amora apresentaram altos níveis de compostos fenólicos a 100 °C e com tempo de exposição de 10 minutos. Para a nectarina e a manga foi observado decréscimo dos teores de polifenóis quando a temperatura passou de 75 para 100 °C. A alface roxa manteve seus conteúdos praticamente inalterados nas temperaturas mais elevadas (75 e 100 °C), independentemente do tempo de exposição.

Gaspar, Laureano e Sousa (1998) observaram que, para uvas da variedade Napoleão, expostas por

diferentes tempos (0, 2, 2,5, 3 e 4 minutos) sob vapor fluente (± 100 °C), o tempo de três minutos conferiu maior estabilidade da cor e evitou alterações durante o processamento de geleias como também reduziu 95,5% da enzima PPO no mosto. Em outro estudo, foi observado que uvas das variedades Isabel e Refosco, submetidas a diferentes tempos de extração e com temperatura fixa de 70 °C, apresentaram maior retenção da cor dos pigmentos com o maior tempo estudado (6 minutos) (FALCÃO *et al.*, 2007).

As mudanças de pH podem ocorrer durante o processamento ou preparo de alimentos, bem como pigmentos naturais podem ser adicionados a vários tipos de alimentos, com os mais variados valores de pH. Para avaliar seu efeito sobre os compostos fenólicos, as amostras foram submetidas a variações de pH, e os resultados estão ilustrados nas figuras 1 (frutas) e 2 (hortaliças). As mudanças de cores nas faixas de pH foram acompanhadas por espectroscopia no visível ($\lambda_{\text{máx}}$ (nm)).

Foram observadas modificações nas colorações dos compostos fenólicos. Os alimentos de coloração escura, como a ameixa preta, a berinjela, a amora preta e a alface roxa apresentaram maior absorvância em pH alcalino. Em pH 6, obtiveram-se as menores absorvâncias para ameixa preta, morango e kiwi, enquanto que, para a manga, o pH 6 e o pH 10 foram os de melhor concentração de fenólicos. Para o kiwi e para a nectarina, a maior concentração de fenólicos extraídos foi em pH 4 e pH 8, respectivamente.

Figura 1. Influência do pH sobre os compostos fenólicos de frutas.

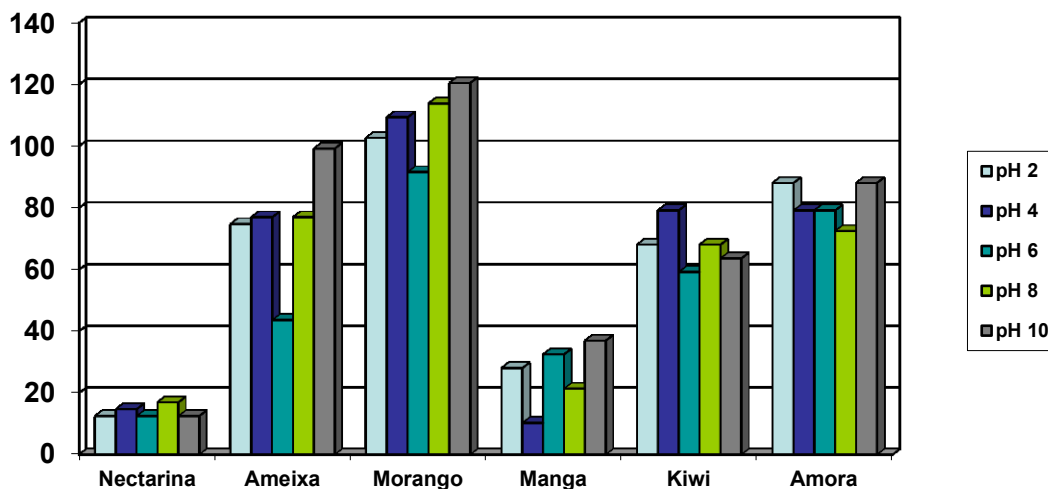
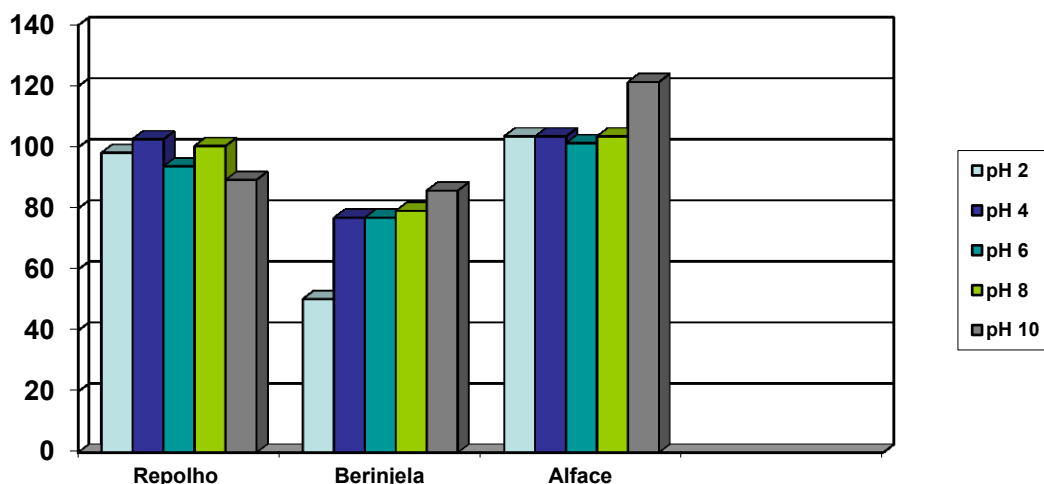


Figura 2 - Influência do pH sobre os compostos fenólicos de hortaliças.



Durante o armazenamento dos alimentos, uma série de modificações químicas pode ocorrer, sendo a velocidade de ocorrência dependente da forma como são acondicionados e do grupo enzimático associado (SETHU, et al., 1996). Durante o congelamento, formam-se cristais de gelo os quais podem romper estruturas colocando em contato enzimas e substratos, antes compartimentalizados. Assim, inicia-se uma série de reações enzimáticas que podem modificar o sabor, a cor, o aroma e a textura dos alimentos (VICENTE et al., 2005).

As amostras de frutas e hortaliças foram submetidas a ciclos de gelo e degelo, e observado o

comportamento dos compostos fenólicos frente a esse processo. Os resultados obtidos nos três ciclos são apresentados na Tabela 3.

As amostras analisadas apresentaram claramente diminuição dos teores de fenólicos totais durante os ciclos gelo e degelo. No terceiro ciclo foram observados os menores valores para fenólicos, sendo que do primeiro para o terceiro ciclo houve perda de 18,6% (repolho) até 75% (nectarina). Também apresentaram perdas acima de 50% nessas condições a manga (65,8%), a ameixa (63,4%) e o morango (51,6%).

Tabela 3 - Teor de compostos fenólicos totais extraídos de frutas e hortaliças (mg/100g amostra) e submetidos a ciclos de gelo e degelo.

Amostra	Ciclo gelo/degelo	Fenólicos Totais
Nectarina	1°	32,58
	2°	24,18
	3°	8,16
Ameixa preta	1°	45,04
	2°	48,44
	3°	16,47
Morango	1°	118,84
	2°	108,7
	3°	57,47
Repolho roxo	1°	105,51
	2°	115,33
	3°	85,87

continua

Tabela 3 - Teor de compostos fenólicos totais extraídos de frutas e hortaliças (mg/100g amostra) e submetidos a ciclos de gelo e degelo.

Berinjela	1º	91,07
	2º	88,42
	3º	59,38
Manga	1º	34,04
	2º	45,04
	3º	11,64
Kiwi	1º	9,38
	2º	5,02
	3º	5,02

conclusão

Na maioria de frutas e hortaliças, os pigmentos estão localizados nas células próximas à superfície, permitindo que atuem como filtros às radiações ultravioleta, melhorem e regulem a taxa de fotossíntese (MAZZA e MINIATI, 1993). Estes pigmentos são facilmente extraídos de materiais vegetais por solventes orgânicos. Tradicionalmente, soluções acidificadas de metanol, etanol, acetona, água e misturas de acetona/metanol/água têm sido usadas

para a extração de antocianinas (JU e HOWARD, 2003). O método usualmente empregado para obter o extrato bruto consiste em tratar a matéria-prima com metanol acidificado com 1% de HCl. Alguns métodos empregam etanol em substituição ao metanol para menor toxidez, especialmente quando a extração se faz com fim alimentício. Neste estudo, foi utilizado etanol acidificado para extração das antocianinas, e os resultados para as amostras recém-processadas são apresentados na Tabela 4.

Tabela 4 - Teor de antocianinas extraídas de frutas e hortaliças (mg/100g amostra)

Fruta ou Hortaliça	Antocianinas
Nectarina	0,27 ± 0,03
Ameixa preta	1,69 ± 0,36
Morango	1,22 ± 0,12
Repolho roxo	7,89 ± 1,79
Berinjela	1,27 ± 0,01
Manga	0,20 ± 0,01
Kiwi	0,04 ± 0,00
Amora preta	6,32 ± 0,28
Alface roxa	4,49 ± 0,29

O teor mais elevado de antocianinas (7,89 ± 1,79 mg/100g amostra) foi observado no repolho roxo. Ameixa preta, berinjela e morango apresentaram teores intermediários, enquanto que o kiwi, a manga e a nectarina apresentaram baixos conteúdos de antocianinas.

Os alimentos podem passar por mudanças de temperatura durante o processamento, armazenamento, estocagem e preparo doméstico. Segundo Mazza e Miniati (1993), o aumento da temperatura pode causar destruição logarítmica das antocianinas. Goffey et al. (1981), todavia, afirmam que isso nem sempre acontece, pois para algumas antocianinas o aumento na temperatura pode favorecer a produção

de complexos ou reações de polimerização durante a degradação, que estabilizam os pigmentos. Processos utilizando baixo tempo em alta temperatura têm sido recomendados para melhor retenção dos pigmentos. No caso de sucos de frutas vermelhas, perdas de antocianinas mostraram-se insignificantes para tratamentos térmicos com duração inferior a 12 minutos a 100 °C (MARKAKIS, 1982).

Foi avaliado o comportamento das antocianinas frente à elevação da temperatura, nas amostras em estudo, e os resultados são apresentados na Tabela 5.

Para todas as amostras houve uma correlação positiva entre o tempo de exposição das amostras e a temperatura de 50 °C, provavelmente pela maior extração dos pigmentos antociânicos. O tempo de 10 minutos foi o que apresentou os maiores teores de antocianinas.

Com a elevação da temperatura para 75 °C foi observado acréscimo de 25% na extração de antocianinas para a manga, e os seus níveis mantiveram-se inalterados quando a temperatura foi elevada para 100 °C.

A manga e o kiwi demonstraram possuir pequena quantidade de antocianinas, e a nectarina apresentou degradação de antocianinas à medida que foi elevada a temperatura e aumentado o tempo de exposição.

Para a maior temperatura em estudo observou-se maior extração dos pigmentos para a ameixa preta e a alface roxa no tempo de 10 minutos. O repolho roxo e a amora preta apresentaram comportamento praticamente constante quando mantido o tempo e variada a temperatura, e os níveis mais elevados foram observados no tempo de 10 minutos, independentemente da temperatura.

Antocianinas aciladas são mais estáveis do que as não aciladas, frente à degradação térmica. Dyrby, Westergard e Stapelfeldt (2001) investigaram a estabilidade térmica de diferentes extratos de antocianinas em sistemas tampão pH 3,0 e temperaturas entre 25 °C e 80 °C, incluindo o extrato de repolho roxo (*brassica oleraceae* L.), no qual as antocianidinas cianidina-3,5-diglicosídeo e cianidina-3-sorofosídeo-3-glicosídeo, aciladas com os ácidos sinâmico, ferrúlico, *p*-cumárico, cafeico ou malônicas são predominantes. Os resultados indicaram maior estabilidade à degradação térmica dos extratos de repolho roxo, *blackcurrant*, uva e *elderberry*, respectivamente. A estabilidade das antocianinas de repolho roxo deve em função das moléculas ricas em copigmentos que protegem o cátion flavilium do ataque nucleofílico da água. Em contraste, os extratos de *blackcurrant*, uva e *elderberry* não possuem antocianinas aciladas com ácidos aromáticos.

Tabela 5 - Teor de antocianinas extraídas de frutas e hortaliças (mg/100g amostra) e submetidas à temperatura de 50, 75 e 100 °C durante 1, 2, 5 e 10 minutos.

	Tempo / Temperatura	1 min	2 min	5 min	10 min
Nectarina	50 °C	0,49±0,35	1,75±0,30	3,36±0,45	5,09±0,34
	75 °C	0,22±0,33	0,28±0,33	1,93±0,41	3,66±0,42
	100 °C	0,02±0,39	0,08±0,35	0,21±0,32	0,41±0,39
Ameixa preta	50 °C	0,65±0,40	2,81±0,36	7,53±0,33	15,48±0,39
	75 °C	1,14±0,37	2,81±0,36	4,68±0,34	12,4±0,39
	100 °C	1,24±0,43	2,93±0,40	7,53±0,45	16,01±0,33
Morango	50 °C	0,63±0,45	1,75±0,49	3,46±0,41	9,16±0,38
	75 °C	0,90±0,46	1,71±0,35	2,85±0,39	5,09±0,35
	100 °C	1,12±0,46	2,12±0,36	4,68±0,33	7,53±0,32
Repolho roxo	50 °C	1,61±0,44	3,34±0,42	8,04±0,46	16,7±0,44
	75 °C	1,59±0,36	3,22±0,31	8,04±0,44	16,09±0,46
	100 °C	1,67±0,38	1,62±0,33	7,53±0,42	16,7±0,48
Berinjela	50 °C	1,28±0,43	1,83±0,33	1,88±0,40	5,48±0,44
	75 °C	0,37±0,40	0,81±0,40	1,83±0,33	2,84±0,42
	100 °C	0,30±0,39	0,81±0,44	4,07±0,32	3,94±0,40
Manga	50 °C	0,16±0,38	0,12±0,48	0,51±0,32	0,81±0,34
	75 °C	0,12±0,39	0,24±0,49	0,51±0,30	1,02±0,33
	100 °C	0,12±0,42	0,21±0,32	0,61±0,31	1,02±0,34
Kiwi	50 °C	0,06±0,46	0,08±0,43	0,30±0,33	0,41±0,38
	75 °C	0,08±0,48	0,08±0,48	0,10±0,39	0,41±0,39
	100 °C	0,04±0,44	0,08±0,32	0,21±0,41	0,41±0,39
Amora preta	50 °C	1,61±0,45	3,22±0,34	8,04±0,45	16,09±0,41
	75 °C	1,61±0,46	3,22±0,45	8,04±0,33	16,09±0,44
	100 °C	1,61±0,43	3,09±0,44	8,04±0,36	16,09±0,46
Alface roxa	50 °C	1,61±0,42	3,09±0,37	7,38±0,37	14,63±0,48
	75 °C	1,22±0,33	2,38±0,38	4,68±0,37	8,76±0,44
	100 °C	1,12±0,39	3,09±0,33	7,53±0,42	16,09±0,40

Em estudo realizado com cianidina 3-glicosídeo e extrato bruto de “raspberry” (*rubus idacus*, cv. Eritage), Goffey et al. (1981) verificaram que as amostras de cianidina 3-glicosídeo apresentaram diminuição do seu teor, levemente menor a 38 °C do que a 24 °C. O efeito de diferentes temperaturas sobre a estabilidade de antocianinas do extrato bruto de laranjas pigmentadas foi estudado por Katsabokakis, Papanicolaou e Melanitou (1998) em pH 3,5.

Após três horas sob temperaturas de 60, 70 e 80 °C, verificou-se perda de menos de 20% das antocianinas, enquanto que, quando mantidas no mesmo tempo a 90 e 100 °C, mais de 50% das antocianinas foram destruídas.

Para avaliar o efeito do pH sobre as antocianinas, as amostras foram submetidas a variações de pH de 2 a 10, e os resultados estão ilustrados nas figuras 3 (frutas) e 4 (hortaliças). As mudanças de cores nas faixas de pH foram acompanhadas por espectroscopia no visível ($\lambda_{\text{máx}}$ (nm)).

Figura 3 - Influência do pH nos teores de antocianinas de frutas

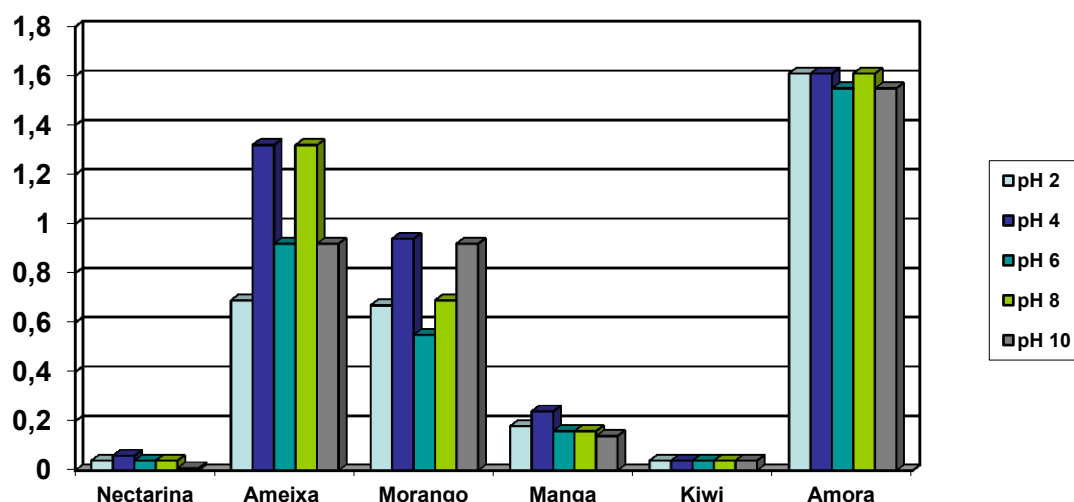
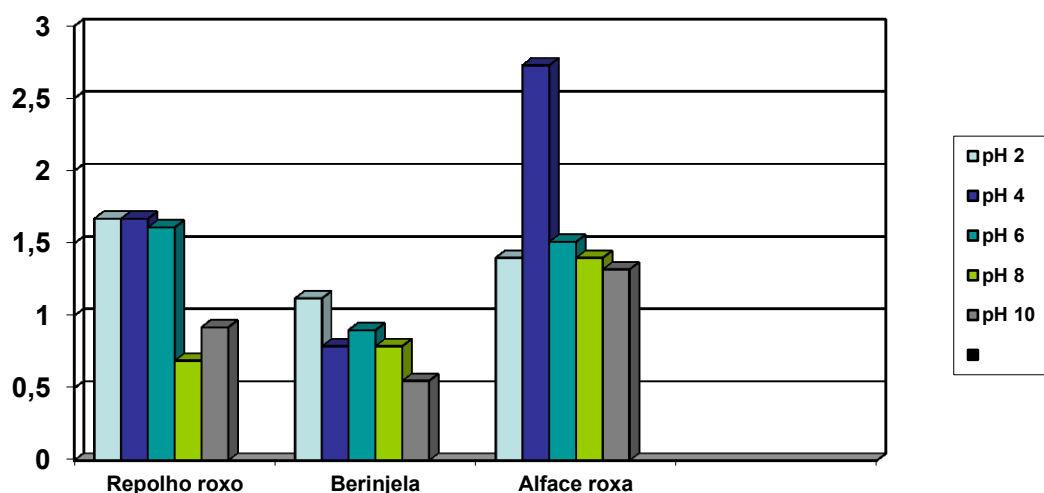


Figura 4 - Influência do pH sobre os teores de antocianinas de hortaliças



Foram observadas modificações nas colorações dos pigmentos antocianínicos de acordo com o pH. Isso se deve à característica anfótera desses compostos, que em pH ácido encontram-se na forma de sais de oxônio e, em geral, são vermelhas brilhantes. Com o aumento do pH, passam a ter uma estrutura quinoidal, púrpura e, em meio alcalino, a cor muda para o azul (BOBBIO, 1992). O pH exerce influência não apenas na cor das antocianinas, assim como na sua estabilidade. As antocianinas são mais

estáveis em soluções ácidas do que em neutras e alcalinas (MARKAKIS, 1982).

O repolho roxo, a berinjela e a alface roxa apresentaram maiores teores de antocianinas em pH ácido, enquanto que a amora apresentou um padrão linear de antocianinas mesmo com a variação do pH.

Em relação ao ciclo gelo e degelo, as antocianinas apresentaram padrão relativamente diferente daquele obtido pelos compostos fenólicos totais. Os resultados obtidos são apresentados na Tabela 6.

Tabela 6 - Teor de antocianinas extraídas de frutas e hortaliças (mg/100g amostra) e submetidas a ciclos de gelo e degelo.

Amostra	Ciclo gelo/degelo	Antocianinas
Nectarina	1º	0,092±0,50
	2º	0,074±0,55
	3º	0,072±0,59
Ameixa preta	1º	0,064±0,65
	2º	0,143±0,53
	3º	0,354±0,56
Morango	1º	0,530±0,57
	2º	0,687±0,55
	3º	0,528±0,52
Repolho roxo	1º	1,570±0,52
	2º	1,567±0,58
	3º	1,620±0,68
Berinjela	1º	0,218±0,65
	2º	0,452±0,64
	3º	0,408±0,61
Manga	1º	0,176±0,52
	2º	0,175±0,53
	3º	0,186±0,56
Kiwi	1º	0,036±0,59
	2º	0,020±0,59
	3º	0,020±0,63

Após a realização dos ciclos, a maior parte das amostras manteve ou aumentou os níveis de antocianinas. A nectarina e o kiwi apresentaram diminuição da quantidade de antocianinas de 20 e 40%, respectivamente, a partir do segundo ciclo.

CONCLUSÃO

A extração com a mistura Etanol/HCl foi eficiente na extração de antocianinas. A nectarina e a manga apresentaram os menores conteúdos de compostos fenólicos e, juntamente com o kiwi, os menores teores de antocianinas. O binômio tempo e temperatura auxiliaram na extração de pigmentos e nas condições avaliadas nas quais a grande maio-

ria das amostras apresentou características estáveis. As mudanças de pH podem ser úteis na obtenção de maiores quantidades de pigmentos, de estruturas mais estáveis e de colorações variadas, tornando-se fontes potenciais para utilização como corantes em alimentos. Os ciclos de gelo e degelo apresentaram os maiores índices de degradação de compostos fenólicos totais, enquanto que as antocianinas tiveram seus conteúdos mantidos ou elevados após o tratamento.

Avaliando os resultados obtidos, verifica-se a importância de estudos complementares para avaliar a influência de outras formas de processamento na quantidade de compostos fenólicos, bem como avaliar a atividade antioxidante desses compostos antes e após o processamento.

REFERÊNCIAS

- ÂNGELO, P. M.; JORGE, N. Compostos fenólicos em alimentos: uma breve revisão. **Revista Instituto Adolfo Lutz**, v.66, n.1, p.1-9, 2007.
- BALASUNDRAM, N.; SUNDRAM, K.; SAMMAN, S. Phenolic compounds in plants and agri-industrial by-products: Antioxidant activity, occurrence, and potential uses. **Food Chemistry**, v. 99, p. 191 – 203, 2006.
- BOBBIO, F. O; BOBBIO, P. A. **Química de processamento de alimentos**. 2.ed. São Paulo: Livraria Varela, 1992.
- BOULTON, R. The copigmentation of anthocyanins and its role in the color of red wine: A Critical Review. **American Journal of Enology and Viticulture**, v. 52, n. 2, p. 67-80, 2001.
- BRIDLE, P; TIMBERLAKE, C. F. Anthocyanins as natural food colours-selected. **Food Chemistry**, v. 58, n.1, p.103-109, January 1997.
- BROUILLARD, R. Chemical structure of anthocyanins. In: MARKAKIS, P. **Anthocyanins as food colors**. London: Academic Press, 1982. p.1-40.
- CASTAÑEDA-OVANDO; A. et al. C. A. Chemical studies of anthocyanins: a review. **Food Chemistry**, v. 113, p. 859 – 871, 2009.
- CIESLIK, E., GREDA, A.; ADAMUS, W. Contents of polyphenols in fruit and vegetables. **Food Chemistry**, v.94, p.135-142, 2006.
- DYRBY, M; WESTERGARD, N.; STAPELFELDT, H. Light and heat sensitivity of red cabbage extract in soft drink models systems. **Food Chemistry**, Great Britain, v. 72, p. 431-437, 2001.
- ESPÍN, J. C. et al. Anthocyaninbased natural colorants: A new source of antiradical activity for foodstuff. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 48, p. 1588-1592, 2000.
- FALCÃO A. P. et al. Índice de polifenóis, antocianinas totais e atividade antioxidante de um sistema modelo de geléia de uvas. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v.27, p.637-642, 2007.
- GASPAR, C.; LAUREANO, O.; SOUSA, I. Production of reduced-calorie grape juice jelly with gellan, xanthan and locust bean gums: sensory and objective analysis of texture. **Z Lebensm Unters Forsch A**, v. 206, n. 3, p. 169-174, 1998.
- GOFFEY, D. G.; CLYDESDALE, F. M.; FRANCIS, F. J.; DAMON JR., R. A. Stability and complexation of cyaniding-3-glucoside and raspberry juice extract in the presence of selected cations. **Journal of Food Protection**, v.44, n.7, p.516- 523, 1981.
- HALLIWELL, B. Oxidative stress in cell culture: an under-appreciated problem? **FEBS Letters**, v. 540, p. 3-6, 2003.
- HOLLMAN, P. C. H.; KATAN, M. B. Dietary flavonoids: intake, health effects and bioavailability. **Food and Chemical Toxicology**, v. 37, p. 937– 942, 1999.
- HORWITZ, W. **Official methods of analysis oh the association of official analytical chemists**. 13.ed. Washington: Association of Official Analytical Chemists, 1980. 1080p.
- JU, Z. Y.; HOWARD, L. R. Effects of solvent and temperature on pressurized liquid extraction of anthocyanins and total phenolics from dried red grape skin. **J. Agric. Food Chem.**, v. 51, p. 5207-5213, 2003.
- KATSABOXAKIS, K.; PAPANICOLAOU, D.; MELANITOU, M. Stability of pigmented orange anthocyanins in model and real food system.. **Italian Journal Food Science**, [S. l.], v. 10, n. 1, p. 17-25, 1998.
- KONG, J.M. Analysis and biological activities of anthocyanins. **Phytochemistry**, v.64, p.929-933, 2003.
- LEES, D. H.; FRANCIS, F. J. Quantitatives methods for anthocyanins VI Flavonol and anthocyanins in cranberries. **Journal of Food Science**, 1971.
- MALLACRIDA, S.R. & MOTTA, S. **Antocianinas em suco de uva: composição e estabilidade**. CEPPA, v.24, p.59-82, 2006.
- MARKAKIS, P. Stability of anthocyanins in foods. In: MARKAKIS, P. (Ed.) **Anthocyanins as food colors**. New York: Academic Press, 1982. p. 163-180.
- MAZZA G, MINIATI E (1993). **Anthocyanins in fruits, vegetables, and grains**. CRC Press Boca Raton, FL, USA.
- OZGEN, M. Chemical and antioxidant properties of pomegranate cultivars grown in Mediterranean region of Turkey. **Food Chemistry**, v.110, p.703-706, 2008.
- POZO-INSFRAN, D. D.; BRENES, C. H.; TALCOTT, S. T. Phytochemical composition and pigment stability of acai (Euterpe oleracea Mart.). **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, Easton, v. 52, n. 6, p. 1539 1545, 2004.
- RAMIREZ-TORTOSA, C.; ANDERSEN, O. M.; GARDNER, P. T.; MORRICE, P. C.; WOOD, S. G.; DUTHIE, S. J.; COLLINS, A. R.; DUTHIE, G. G. Anthocyanin-rich extract decreases indices of lipid peroxidation and DNA damage in vitamin e-depleted rats. **Free Radical Biology & Medicine**, v. 31, n. 9, p. 1033-1037, 2001.
- ROGINSK, Y. V.; LISSI, E. A. Review of methods to determine chain-breaking antioxidant activity in food. **Food Chemistry**, v. 92, p. 235-254, 2005.

SETHU, K. M. P.; PRABHA, T. N.; THARANATHAM, R. N. Post harvest biochemical changes associated with the softening phenomenon in *Capsicum annum* fruits. **Phytochemistry**, Elmsfod, v. 42, n.4, p. 961-966, 1996.

SHAHIDI, F.; JANITHA, P. K.; WANASUNDARA, P. D. Phenolic antioxidants. **Critical reviews in food science and nutrition**, v. 32, p. 67 – 103, 1992.

SOARES, D. G.; ANDREZZA, A. C.; SALVADOR, M. Avaliação de compostos com atividade antioxidante em células da levedura *Saccharomyces cerevisiae*. **Revista Brasileira de Ciências Farmacêuticas**, v. 41, n. 1, jan./mar. 2003.

VICENTE, A. R.; COSTA M. L.; MARTINEZ, G. A. et al. Effect of heat treatments on cell wall degradation and softening in strawberry fruit. **Postharvest Biology and Technology**, Orlando, v.38, n.3, p. 213-222, 2005.

WROLSTAD, R. E.; DURST, R. W.; LEE, J. Tracking color and pigment changes in anthocyanin products. **Trends in Food Science & Technology**, v. 16, p. 423-428, 2005.

ZUANAZZI, J. A. S.; MONTANHA, J. A. Flavonóides. In: SIMÕES, C. M. O., et al. (Orgs.) **Farmacognosia: da planta ao medicamento**. 5.ed., Florianópolis: Ed. Universidade Federal de Santa Catarina, 2003. p. 577-614.