

COMPOSTOS FENÓLICOS E ATIVIDADE ANTIOXIDANTE DE DIFERENTES CULTIVARES E SELEÇÕES DE MIRTILO DOS GRUPOS HIGHBUSH E RABBITEYE

PHENOLIC AND ANTIOXIDANT ACTIVITY OF BLUEBERRY HIGHBUSH AND RABBITEYE VARIETIES AND SELECTIONS

Márcia Vizzotto¹, Vanessa Fernandes Araujo², Marina Couto Pereira³, Tatiane Senna Bialves⁴, Gerson Kleinick Vignolo⁵

¹ Engenheira Agrônoma, Doutora. Embrapa Clima Temperado, Pelotas. marcia.vizzotto@embrapa.br

² Engenheira Agrônoma, Mestre. Departamento de Fitotecnia, Faculdade de Agronomia Eliseu Maciel, Universidade Federal de Pelotas. vagroufpe@hotmail.com

³ Nutricionista, Mestre. Universidade Federal do Rio Grande do Sul. marinacoutopereira@hotmail.com

⁴ Graduanda de Biologia. Instituto Federal Sul-Riograndense, Campus Pelotas Visconde da Graça. tatybialves1991@gmail.com

⁵ Engenheiro Agrônomo, Mestre. Departamento de Fitotecnia, Faculdade de Agronomia Eliseu Maciel, Universidade Federal de Pelotas. gerson_vignolo@yahoo.com.br

RESUMO

As frutas vermelhas, como o mirtilo, têm diferentes grupos de fitoquímicos que podem trazer benefícios para a saúde quando consumidos como parte da dieta habitual. Estudos epidemiológicos sugerem que o frequente consumo desses alimentos é associado com a baixa incidência de doenças degenerativas incluindo o câncer, doenças cardiovasculares entre outras, principalmente devido à presença de compostos bioativos tais como ácidos fenólicos e flavonoides. A diferença nos teores de compostos bioativos em espécies de diferentes frutas vermelhas é evidente. Em mirtilo, por exemplo, dentro da mesma espécie existem variações significativas entre cultivares. O objetivo deste trabalho foi conhecer a variação dos teores de compostos fenólicos e a atividade antioxidante entre dois grupos de mirtilo, highbush e rabbiteye, e das cultivares e seleções dentro dos grupos. Os mirtilos das diferentes cultivares do grupo rabbiteye foram colhidos na Embrapa Clima Temperado em Pelotas, RS, acondicionados em sacos plásticos, identificados e armazenados imediatamente em ultrafreezer e os mirtilos do grupo highbush foram cedidos pela empresa Italbraz de Vacaria, RS. Depois de colhidos, estes frutos foram transportados em sistema refrigerado, em bandejas com tampa até o laboratório de Ciência e Tecnologia de Alimentos da Embrapa Clima Temperado e armazenados à -18°C até o momento das análises. Entre as cultivares avaliadas do grupo highbush a que apresentou os melhores teores de compostos fenólicos e a maior atividade antioxidante foi a Elliot enquanto que, entre as cultivares do grupo rabbiteye a Bluebelle foi a que mais se destacou. Entre as seleções analisadas a S103 e a S117 têm bom potencial. O conteúdo de compostos fenólicos totais e a atividade antioxidante das seleções avaliadas foram semelhantes aos do grupo rabbiteye. As cultivares Elliot e Bluebelle possuem um maior benefício funcional que as demais cultivares avaliadas.

Palavras-chave: compostos bioativos, *Vaccinium* sp., variabilidade genética

ABSTRACT

Red fruits, such as blueberries, have different groups of phytochemicals that can bring health benefits when consumed as part of the usual diet. Epidemiological studies have suggested that frequent consumption of these foods is associated with a low incidence of degenerative diseases including cancer, cardiovascular diseases, among others, mainly due to the presence of bioactive compounds such as flavonoids and phenolic acids. The difference in levels of bioactive compounds in different species of red fruit is evident. In blueberry, for example, within the same species there are significant variations between cultivars. The aim of this study was to identify the changes in the levels of phenolic compounds and antioxidant activity between two groups of blueberry, highbush and rabbiteye, and cultivars and selections within groups. Rabbiteye fruits were harvested at Embrapa Clima Temperado in Pelotas, RS, wrapped in plastic bags, identified and stored immediately in ultrafreezer. Highbush blueberries were provided by a private company from Vacaria, RS. Once harvested, these fruits were transported in cooled system to the laboratory of Food Science and Technology at Embrapa Clima Temperado and stored at -18°C until analysis. Elliot was the best among the highbush cultivars with the high phenolic content and antioxidant activity. Bluebelle was the best among the rabbiteye cultivars. Among the selections analyzed the S103 and S117 have a good potential. The phenolic content and antioxidant activity were similar among the selections evaluated into the rabbiteye group Elliot and Bluebelle cultivars have great potential with functional benefit comparing to the other cultivars evaluated.

Keywords: bioactive compounds, *Vaccinium* sp., Genetic variability

INTRODUÇÃO

“Do grupo das pequenas frutas que abrange, entre outras, as culturas de morango, framboesa, mirtilo e amora preta, o mirtilo é classificado como a fruta fresca mais rica em antioxidante já estudada, tendo um conteúdo elevado de polifenóis na casca e na polpa” (MORAES, 2007). Existem três grupos principais de mirtilo cultivados comercialmente: os de arbustos baixos “lowbush”, os de arbustos altos “highbush”, e os do tipo olho de coelho “rabbiteye” (STRIK, 2007).

A Embrapa Clima Temperado introduziu a primeira coleção de mirtilo no sul do Brasil, em 1983, a qual era constituída exclusivamente de cultivares do grupo "rabbiteye". Poucos anos depois, foram introduzidas, procedentes da Flórida, sementes obtidas por polinização aberta da cultivar Bonita. Por alguns anos, o programa limitou-se a avaliação dessas cultivares e seleções, uma vez que a espécie não tinha importância no Brasil, sendo preterida as espécies economicamente importantes (RASEIRA, 2007. p.1-10).

“Nos últimos anos, foram ativados os trabalhos, realizadas novas introduções de cultivares e de sementes, não só de cultivares do grupo "rabbiteye" como também de "highbush" e híbridos” (RASEIRA, 2007).

As frutas vermelhas, como o mirtilo, têm diferentes grupos de fitoquímicos que podem trazer benefícios para a saúde quando consumidos como parte da dieta habitual. “Estudos epidemiológicos sugerem que o frequente consumo desses alimentos é associado com a baixa incidência de doenças degenerativas incluindo o câncer, doenças cardiovasculares entre outras” (HE et al., 2007), “principalmente devido à presença de compostos bioativos

tais como ácidos fenólicos e flavonoides” (FELDRNAN, 2001; SHAHIDI & NACZK, 2004). “Além disso, existe uma boa correlação entre as concentrações de compostos fenólicos, antocianinas e capacidade antioxidante em mirtilos” (PRIOR et al., 1998, TARUSCIO et al., 2004).

“Existem vários fatores que podem afetar o conteúdo de compostos fenólicos em mirtilos, tais como a maturidade dos frutos, diferenças genéticas entre cultivares, condições ambientais e de processamento” (CONNOR et al., 2002; SIRIWOHARN et al., 2004).

No Brasil, as principais cultivares pertencem ao grupo rabbiteye (ANTUNES & RASEIRA, 2006), pois são melhor adaptadas às condições climáticas uma vez que são mais rústicas, porém as frutas são de qualidade inferior em comparação com cultivares do grupo “highbush”, que é cultivado, principalmente, nos Estados Unidos.

A diferença nos teores de compostos bioativos em espécies de diferentes frutas vermelhas é evidente. Em mirtilo, por exemplo, dentro da mesma espécie existem variações significativas entre cultivares. Nos programas de melhoramento, o conhecimento das variações nas concentrações de fitoquímicos existentes nas diversas seleções pode ser muito útil na seleção de progenitores, e também na seleção de novas variedades para cultivo comercial, visto à busca cada vez maior por alimentos mais saudáveis.

Desta forma, o objetivo deste trabalho foi conhecer a variação dos teores de compostos fenólicos e a atividade antioxidante entre dois grupos de mirtilo, highbush e rabbiteye, e das cultivares e seleções dentro dos grupos.

MATERIAIS E MÉTODOS

Preparo de amostras:

Os mirtilos das diferentes cultivares do grupo rabbiteye foram colhidos na Embrapa Clima Temperado em Pelotas, RS, acondicionados em sacos plásticos, identificados e armazenados imediatamente em ultrafreezer e os mirtilos do grupo highbush foram cedidos pela empresa Italbraz de Vacaria, RS. Depois de colhidos, estes frutos foram transportados em sistema refrigerado, em bandejas com tampa até o laboratório de Ciência e Tecnologia de Alimentos da Embrapa Clima Temperado e armazenados à -18°C até o momento das

análises. Todas as frutas foram homogeneizadas por tamanho e cor e para as análises foi utilizada apenas a região equatorial do fruto.

Quantificação dos fenólicos totais

Cinco gramas de amostra foram homogeneizadas em ultra-turrax com 20 mL de metanol e centrifugadas por 30 minutos a 7000 rpm, em centrífuga refrigerada a 4 °C. Em um tubo de ensaio foram pipetados 250 µL da amostra, adicionados 4 mL de água ultra pura e 250 µL do reagente Folin-Ciocalteu (0,25 N), agitado e mantido em repouso por 3 minutos para reagir. Adicionou-se 500 µL de carbonato de sódio (1N) e, novamente, os tubos foram agitados e mantidos por 2 horas para reagir. As leituras da absorbância foram realizadas em espectrofotômetro, zerado com o controle (branco), e no comprimento de onda de 725 nm. Uma curva padrão para o ácido clorogênico foi construída. A metodologia utilizada para determinação de compostos fenólicos totais foi adaptada de Swain & Hillis (1959).

Atividade antioxidante

Cinco gramas de amostra foram homogeneizados em ultra-turrax com 20 mL de metanol e centrifugados por 30 minutos a 7000 rpm em centrífuga refrigerada a 4°C. Foram pipetados 200 µL de amostra e misturados com 3800µL de DPPH (2,2-difenil-1-picrilhidrazil, diluído em metanol) em tubos de 15 mL com tampa. Os tubos foram agitados e deixados para reagir por 24 horas. A leitura de absorbância foi feita em espectrofotômetro zerado com metanol, no comprimento de onda de 515nm. Uma curva padrão foi construída para o TROLOX (ácido 6-hidroxi-2,5,7,8-tetrametilcroman-2-carboxílico). A metodologia utilizada para determinação da atividade total foi adaptada de Brand-Williams et al. (1995).

RESULTADOS E DISCUSSÃO

A Tabela 1 apresenta a concentração de compostos fenólicos e atividade antioxidante das cultivares de mirtilo do grupo highbush estudadas. A concentração de compostos fenólicos variou de 292 até 546 mg de equivalente ácido clorogênico/100g de amostra fresca

enquanto que a variação da atividade antioxidante foi de 3124 à 6638 µg de equivalente trolox/g de peso fresco.

Dentre as cultivares pertencentes ao grupo “highbush”, a Elliot e a Earlyblue apresentaram o maior conteúdo de compostos fenólicos totais não diferindo estatisticamente entre si. No entanto, a atividade antioxidante foi superior na cultivar Elliot (Tabela 1). A Elliot é a cultivar mais exigente em frio produzida no Brasil e apresenta produção tardia. A Earlyblue possui frutos maiores e maturação antecipada (PRITTS e HANCOK, 1992). A cultivar Bluecrop tem frutas grandes, entretanto demonstrou a metade do potencial antioxidante encontrado na Elliot.

Dragovik-Uzelac et al. (2010), avaliando mirtilos “highbush” cultivados em condições climáticas do noroeste da Croácia encontraram resultados semelhantes aos do presente estudo, sendo que a cultivar Elliot, quando comparada às cultivares Bluecrop e Duke, foi a que apresentou os melhores resultados de atividade antioxidante e compostos fenólicos.

Connor et al. (2002), avaliando o efeito da variação genotípica e ambiental em mirtilos, observou que a variação de compostos fenólicos totais, antocianinas, flavonóides entre diferentes genótipos foi muito maior do que a observada entre as estações de crescimento, indicando que a genética desempenha um papel mais importante do que a estação de crescimento, influenciando o conteúdo fenólico em mirtilos.

Tabela 1. Compostos fenólicos totais e atividade antioxidante de mirtilos do grupo highbush produzidos no Rio Grande do Sul. Embrapa Clima Temperado, Pelotas, RS, 2013.

Cultivares	Fenólicos totais ¹	Atividade antioxidante ²
Bluecrop	305±43 b	3124±183 c
Duke	292±9 b	3890±107 c
Elliot	546±51 a	6638±124 a
Earlyblue	534±23 a	5645±308 b

¹Compostos fenólicos totais em mg equivalente do ácido clorogênico/100g de peso fresco. ²Atividade antioxidante em µg de equivalente trolox/g de peso fresco. Os dados são médias de três repetições ± erro padrão.

Comparando-se as cultivares do grupo “rabbiteye”, a Bluebelle, a Bluegem e a Britteblue apresentaram os maiores teores de compostos fenólicos e a maior atividade antioxidante, sem diferir estatisticamente entre si (Tabela 2). Verifica-se que os compostos fenólicos variaram entre 456 a 718 mg equivalente do ácido clorogênico/100g de peso fresco para as diferentes cultivares. Diferenças na concentração de compostos fenólicos são comuns em cultivares da mesma fruta, fato também verificado por Pertuzatti (2009) e Moraes et al. (2007). A concentração de compostos fenólicos e a atividade antioxidante é altamente influenciada por fatores genéticos (EHLENFELDT et al., 2007).

Tabela 2. Compostos fenólicos totais e atividade antioxidante de mirtilos do grupo rabbiteye produzidos no Rio Grande do Sul. Embrapa Clima Temperado, Pelotas, RS, 2013.

Cultivares	Fenólicos totais ¹	Atividade antioxidante ²
Climax	525±39 cd	6696±381 c
Bluegem	704±13 ab	8192±230 ab
Florida	456±13 d	4593±191 d
Britteblue	657±8 ab	6876±90 bc
Woodard	618±13 bc	6768±311 c
Bluebelle	718±15 a	8619±442 a

¹ Compostos fenólicos totais em mg equivalente do ácido clorogênico/100g de peso fresco. ² Atividade antioxidante em µg de equivalente trolox/g de peso fresco. Os dados são médias de três repetições ± erro padrão.

Dentre as seleções avançadas que fazem parte do programa de melhoramento da Embrapa Clima Temperado, obtidas a partir das sementes originadas através da polinização aberta da cv. Bonita, procedentes da Flórida, a S117 e a S103 apresentaram os maiores teores de compostos fenólicos, e a S103 e S123 as maiores atividades antioxidantes (Tabela 3).

Tabela 3. Compostos fenólicos totais e atividade antioxidante de seleções avançadas de mirtilos produzidos no Rio Grande do Sul. Embrapa Clima Temperado, Pelotas, RS, 2013.

Seleções	Fenólicos totais ¹	Atividade antioxidante ²
S103	658±24 ab	8469±189 a
S110	382±17 c	4851±92 c

S117	733±9 a	7009±125 b
S123	650±18 b	7977±352 ab

¹Compostos fenólicos totais em mg equivalente do ácido clorogênico/100g de peso fresco. ²Atividade antioxidante em µg de equivalente trolox/g de peso fresco. Os dados são médias de três repetições ± erro padrão.

O grupo de cultivares de mirtilos “rabbiteye” apresentaram maiores teores de compostos fenólicos totais e atividade antioxidante, teores estes, semelhantes às seleções avançadas quando comparados com o grupo de cultivares de mirtilos “highbush” (Tabela 4). Isto ocorreu, provavelmente, porque os parentais deste grupo foram utilizados nos cruzamentos. Estes resultados são de grande importância para o Brasil, uma vez que as cultivares do grupo “rabbiteye” são as mais cultivadas. Estas cultivares têm características específicas, tais como compostos bioativos e atividade antioxidante superiores às cultivares “highbush”, o que incentiva a comercialização do produto. Corroborando com os dados encontrados neste trabalho Rodriguez (2009), avaliando as principais cultivares de mirtilo produzidas no Brasil relatou que as cultivares representantes do grupo “rabbiteye” apresentam em geral, teores mais elevados de compostos fenólicos e atividade antioxidante que “highbush”.

Tabela 4. Comparação do conteúdo de compostos fenólicos totais e da atividade antioxidante entre os grupos de mirtilos avaliados. Embrapa Clima Temperado, Pelotas, RS, 2013.

Grupos	Fenólicos totais ¹	Atividade antioxidante ²
Highbush	419±39 b	4824±427 b
Rabbiteye	613±23 a	6957±329 a
Seleções	606±41 a	7076±428 a

¹Compostos fenólicos totais em mg equivalente do ácido clorogênico/100g de peso fresco. ²Atividade antioxidante em µg de equivalente trolox/g de peso fresco. Os dados são médias das repetições de todas as cultivares ou seleções pertencentes a cada grupo ± erro padrão.

Foi observada uma correlação direta entre o teor total de compostos fenólicos e a atividade antioxidante em cultivares e seleções de mirtilo (Figura 1). Prior et al. (1998), relataram que o coeficiente de correlação foi muito maior entre a capacidade antioxidante total e o teor de compostos fenólicos totais do que a correlação da capacidade antioxidante

e o teor de antocianinas. Também Connor et al. (2002), relataram que a atividade antioxidante, o conteúdo de fenólicos totais e o conteúdo de antocianinas foram fortemente correlacionados entre si ($R = 0,87-0,99$, $p < 0,01$) enquanto que Rodrigues (2009) encontrou uma correlação moderada ($p < 0,05$) entre a atividade antioxidante e a concentração de compostos fenólicos totais no mirtilo.

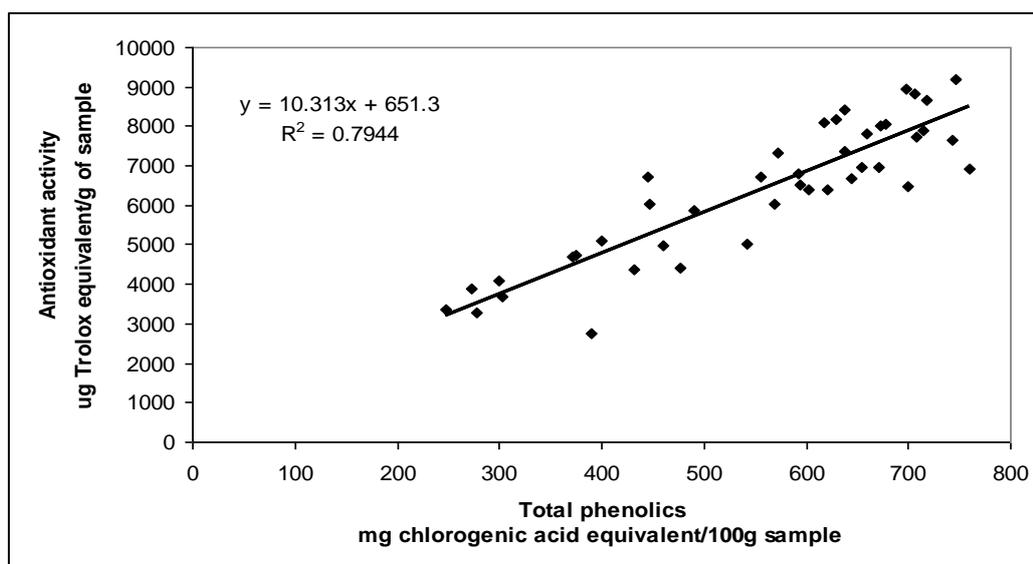


Figura 1. Correlação entre o conteúdo total de compostos fenólicos e a atividade antioxidante entre cultivares e seleções de mirtilos. Embrapa Clima Temperado, Pelotas, RS, 2013.

CONCLUSÕES

Entre as cultivares avaliadas do grupo “highbush” a que apresentou os melhores teores de compostos fenólicos e a maior atividade antioxidante foi a Elliot enquanto que, entre as cultivares do grupo “rabbiteye” a Bluebelle foi a que mais se destacou.

Entre as seleções analisadas a S103 e a S117 apresentam bom potencial como alimento funcional pelo alto teor de compostos bioativos e atividade antioxidante.

O conteúdo de compostos fenólicos totais e a atividade antioxidante das seleções avaliadas foram semelhantes aos do grupo “rabbiteye”.

As cultivares Elliot e Bluebelle se destacaram pelo alto teor de compostos bioativos e atividade antioxidante em relação as demais cultivares avaliadas.

REFERÊNCIAS

ANTUNES, L.E.C.; RASEIRA, M.C.B. **Cultivo do mirtilo** (*Vaccinium* spp.). Pelotas: Embrapa Clima Temperado, (Embrapa Clima Temperado. Sistema de Produção, 8) 99p., 2006.

BRAND-WILLIAMS, W.; CUVELIER, M. E.; BERSET, C. Use of a Free Radical method to evaluate antioxidant activity. **Lebensmittel-Wissenschaft und Technologie**, London, v. 28, p. 25-30, 1995.

CONNOR, A. M.; LUBY, J. J.; TONG, C. B. S. et al. Genotypic and environmental variation in antioxidant activity, total phenolic content, and anthocyanin content among blueberry cultivars. **Journal for American Society for the Horticultural Science**, Washington, v. 127, p. 89-97, 2002.

DRAGOVIK-UZELAC, V.; SAVIC, Z.; BRALA, A. et al. phenolics and antioxidant capacity of blueberry, *Food Technology Biotechnology*. v.48, 214–221, 2010.

EHLENFELDT, M.K.; ROWLAND, L.J.; OGDEN, E.L. et al. Floral bud cold hardiness of *Vaccinium ashei*, *V. constablaei*, and hybrid derivatives and the potential for producing Northern-adapted rabbiteye cultivars. **HortScience**, v.42, p.1131-1134, 2007.

FELDRNAN, Elaine. Fruits and vegetables and the risk of stroke. **Nutritional Review**, Cambridge, v. 59, p. 24-27, 2001.

HE, F.; NOWSON, C.; LUCAS, M. et al. Increased consumption of fruit and vegetables is related to a reduced risk of coronary heart disease: metaanalysis of cohort studies. **Journal of Human Hypertension**, Londres, v. 21, n. 9, p. 717-782, 2007.

MORAES, J. O. de; PERTUZATTI, P. B.; CORREA, F. V. et al. Estudo do mirtilo (*Vaccinium ashei* Reade) no processamento de produtos alimentícios. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, Campinas, v.27, p. 18-22, 2007.

PAYNE, T. J. Formulating with Blueberries for Health. **Cereal Foods World**, v. 50, n. 5, p. 262-264, 2005.

PERTUZZATI, Paula Becker. Compostos bioativos em diferentes cultivares de mirtilo (*Vaccinium ashei* Reade). **Dissertação** (Mestrado em Ciência e Tecnologia Agroindustrial) – Universidade Federal de Pelotas, Pelotas, 86f, 2009.

PRIOR, R. L.; CAO, G.; MARTIN, A. et al. Antioxidant capacity as influenced by total phenolic and anthocyanin content, maturity, and variety of *Vaccinium* species. **Journal of Agriculture and Food Chemistry**, Washington, v. 46, p. 2686-2693, 1998.

PRITTS, M. P.; HANCOK J. F. Highbush Blueberry Production Guide. Northeast regional agricultural engineering service. **Cooperative extension**, nº 55, 200p, 1992.

RASEIRA, M. do C. B. Sistema de Produção do Mirtilo: Descrição da planta, melhoramento genético e cultivares. *Sistemas de Produção*, 8 .ISSN 1806-9207 - Versão Eletrônica, Embrapa Clima Temperado, novembro, 2007.

RODRIGUES, Eliseu. Atividade antioxidante *in vitro* e perfil fenólico de cultivares de mirtilo (*Vaccinium* sp.) produzidas no Brasil. **Dissertação** (Mestrado em Ciência dos Alimentos) – Centro de Ciências Agrárias, Universidade Federal de Santa Catarina, 85 p., 2009.

SHAHIDI, F.; NACZK, M. Phenolics in Food and Nutraceuticals. **Boca Raton, FL: CRC Press**. 490, 131-155, 2004.

SIRIWOHARN, T.; WROLSTAD, R. E.; FINN, C. E. et al. 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. 8021-8030, 2004.

STRIK, B.C. Horticultural Practices of Growing Highbush Blueberries in the Ever-Expanding U.S. and Global Scene. **Journal of the American Pomological Society**, v.61, p.148-150, 2007.

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

TARUSCIO, T. G.; BARNEY, D. L.; EXON, J. Content and profile of flavanoid and phenolic acid. Compounds in conjunction with the antioxidant capacity for a variety of northwest *Vaccinium* berries. **Journal of Agriculture and Food Chemistry**, Washington, v. 52, p. 3169-3176, 2004.