

Egitania
s c i e n c i a

5



número 5

2 0 0 9

Título

Egitânia Sciencia

Director: Fernando A.S. Neves dos Santos.

Conselho Editorial: Jorge M. Monteiro Mendes, Fernando A.S. Neves Santos, Helder L. Rebelo Sequeira, Manuel A. Carvalho Prata, Constantino Mendes Rei (Instituto Politécnico da Guarda -IPG).

Comissão Científica: Adérito Neto Alcaso, Alberto Trindade Martinho, Amândio Pereira Baía, Ana M. M. Caldas Antão, Ana Maria Jorge, Ascensão M. Martins Braga, Carlos A. Correia Carreto, Carlos F. Sousa Reis, Carlos M. Gonçalves Rodrigues, César Rafael Gonçalves, Eurico J. Gomes Dias, Ezequiel Martins Carrondo, Fernanda M. Trindade Lopes, Fernando C. Silva Marques, Fernando Pires Valente, Filomena S.J. Bolota Velho, Gonçalo J. Poeta Fernandes, Joaquim J. Quadrado Gil, Joaquim M. Fernandes Brigas, Jorge A.P. Fonseca Trindade, José G. Peres Monteiro, José M. Mayor Gonzalez, José R. Santos André, Luísa M.L. Queiroz de Campos, Manuel A. Brites Salgado, Maria C.S. Pinto Silveira, Maria E. Cunha Ferreira, Maria F. Santos David, Maria M. Santos Natário, Maria R. Gomes Gouveia, Maria R. da Silva Santana, Paula Isabel T.G. C. Borges, Paulo A. Moutinho Barroso, Pedro M.S. Melo Rodrigues, Rosa B. Almeida Figueiredo, Rui A.P.S. Cunha Ferreira, Rute M.G.A. Teixeira Matos, Teresa J. Trindade M.C. Fonseca, Teresa M. Dias de Paiva, Tiago M.C. Santos Barbosa, Samuel Walter Best (Elementos do IPG).

Revisão Técnica: Anabela Antunes de Almeida (DGE-UBI); Ana Margarida Godinho Fonseca (ESTG-IPG); António Sérgio Araújo de Almeida (ESTTM-IPL); Bráulio Alexandre Barreira Antunes (ISCTE); José Reinas Santos André (ESTG-IPG); Joaquim Gonçalves Antunes (ESTV-IPV); José Gonçalves Peres Monteiro (ESECD-IPG); Luís Filipe Fernandes Silva Marcelino (ESTG-IPL); Maria do Céu Alves (DGE-UBI); Maria Manuela Santos Natário (ESTG-IPG); Pedro Miguel Santos Melo Rodrigues (ESTG-IPG); Raul Manuel da Silva Laureano (ISCTE);

Revisão de provas: Anabela Oliveira da Naja Sardo, Carlos Reinas Caldeira, Guadalupe Arias Mendez, Sílvia Alexandra Lopes dos Reis.

Propriedade: Instituto Politécnico da Guarda, Av. Dr. Francisco Sá Carneiro nº 50 * 6300-559 Guarda

Contactos: Telf. 271 220 111 * Fax 271 222 690, Email: cap@ipg.pt

Endereço Web: <http://www.ipg.pt/revistaipg/>

Composição gráfica

M Comunicação

Impressão e Acabamentos: Daniel Ferreira, Maria de La Salette Venâncio, José Neves da Costa e Francisco Leite

Depósito Legal: nº 260795/07

ISSN: 1646-8848

Vol. V, Novembro de 2009

Periodicidade: Semestral

Tiragem: 1 000 exemplares

Proibida a reprodução total ou parcial desta Revista sem autorização expressa da Direcção de "Egitania Sciencia". Todos os direitos reservados. Forbidden the total or partial reproduction of this Magazine without express authorization of the Direction Board of "Egitania Sciencia". All rights reserved.

Apoio a este número:

Fundação para a Ciência e a Tecnologia

Unidade de Investigação para o Desenvolvimento do Interior (UDI/IPG)

Nota: Os artigos são da responsabilidade dos autores, não reflectindo necessariamente os pontos de vista da direcção ou dos revisores.

CARACTERIZAÇÃO FÍSICO-QUÍMICA, TEOR EM ÁCIDO ASCÓRBICO E COMPOSTOS FENÓLICOS DO *DIOSPYRUS KAKI*, PROVENIENTE DE DIFERENTES REGIÕES GEOGRÁFICAS DE PORTUGAL CONTINENTAL

PHYSICAL AND CHEMICAL CHARACTERIZATION, ASCORBIC ACID CONTENT AND PHENOLIC COMPOUNDS OF *DIOSPYRUS KAKI*, FROM DIFFERENT GEOGRAPHICAL AREAS OF MAINLAND PORTUGAL

CARACTERIZACIÓN FÍSICO-QUÍMICA, TEXTO EN EL ÁCIDO ASCÓRBICO Y COMPUESTOS FENOLICOS DEL CAQUI DE *DIOSPYRUS*, PROCEDIENDO DE DIVERSAS REGIONES GEOGRÁFICAS DE PORTUGAL CONTINENTAL

Márcio Calhandro *

Filipe Coutinho (filipe.coutinho@cespu.pt) **

Marta O. Soares (marta.soares@ipsn.cespu.pt) ***

Ana F. Vinha (ana.vinha@ipsn.cespu.pt) ****

Marisa Machado (marisa.machado@ipsn.cespu.pt) *****

RESUMO

O conhecimento da composição química dos alimentos é fundamental para a implementação de uma dieta equilibrada na população portuguesa, com impacto positivo na saúde pública. O objectivo principal desta investigação foi estudar a *cultivar caqui-chocolate* (*Diospyrus Kaki*), caracterizando-o físico-quimicamente e no teor em compostos fenólicos na pele e polpa do fruto, mediante a área geográfica de cultivo. Dos resultados obtidos verificou-se que o teor em compostos fenólicos e actividade antioxidante dos fenóis totais variam com a presença ou ausência de pele ($p < 0,05$) e com a região geográfica ($p < 0,001$). De uma forma geral, os compostos fenólicos são superiores em dióspiros com pele e cultivados na região Sul de Portugal. Os resultados reforçam a

elevada importância deste estudo; uma vez que, até à data, nenhum estudo deste género foi publicado, o que se torna uma mais-valia para o interesse do conhecimento da importância do consumo de dióspiros em Portugal.

Palavras-Chave: *Diospyrus kaki*; Caracterização química; Fenóis totais; Licopeno; Ácido ascórbico.

ABSTRACT

The knowledge of the chemical composition of foods is central to the implementation of an balanced diet on Portuguese population with a positive impact on public health. The main goal of this research was the study of the *khaki-chocolate* cultivate (*Diospyrus Kaki*), characterizing the physical-chemical properties and the total phenolic compounds in the skin and flesh of the fruit, by geographical area of cultivation. The results showed that the phenolic content and antioxidant activity of phenols vary with the presence or absence of skin ($p < 0,05$) and geographic region ($p < 0,001$). In general, the compounds are superior in persimmons with skin and cultivated in the South of Portugal. The results underscore the high importance of this study, since to date no study of this kind was published, which becomes an asset for the public knowledge of the importance of persimmons' consumption in Portugal.

Keywords: *Diospyrus Kaki*; Physical-chemical characterization; Total phenolics; Lycopene; Ascorbic acid.

RESUMEN

El conocimiento de la composición química de los alimentos es esencial para la aplicación de una dieta equilibrada en la población. El principal objetivo de esta investigación fue analizar el cultivar caqui-chocolate (*Diospyrus Kaki*), así como la caracterización físico-química y la presencia de compuestos fenólicos en la piel y la pulpa de la fruta, por zona geográfica de cultivo. Los resultados verifican que el contenido de compuestos fenólicos y la actividad antioxidante de fenoles varía con la presencia o ausencia de la piel ($p < 0,05$) y la región geográfica ($p < 0,001$). En general, los compuestos fenólicos son mayores en caquis con la piel y plantados en Sur de Portugal. Los resultados subrayan la gran importancia de este estudio, ya que hasta la fecha, no se publicó el estudio, que es un valor añadido para el interés de conocimiento de la importancia del consumo de Caquis en Portugal.

Palabras-Claves: *Diospyrus kaki*; Caracterización física-química; Fenoles total; Licopeno; Ácido ascórbico.

* Aluno de Licenciatura em Farmácia, Departamento de Farmácia da Escola Superior de Saúde do Vale do Ave/IPSN-CESPU.

** Assistente Técnico do Centro de Investigação e Tecnologia da Saúde (CITS), Escola Superior de Saúde do Vale do Ave/CITS/IPSN-CESPU, 4760 Vila Nova de Famalicão, Portugal).

*** Prof. Adjunta, investigadora do Centro de Investigação e Tecnologia da Saúde (CITS/IPSN-CESPU).

**** Prof. Adjunta do Departamento de Farmácia, Escola Superior de Saúde do Vale do Ave, investigadora do Centro de Investigação e Tecnologia da Saúde.

***** Prof. Adjunta da Escola Superior de Saúde do Vale do Ave, investigadora da Faculdade de Farmácia (CEF), Universidade de Coimbra, investigadora do Centro de Estudos Farmacêuticos (CEF), Faculdade de Farmácia, Universidade de Coimbra, 3000 Coimbra, Portugal.

1. INTRODUÇÃO

Os dados epidemiológicos comprovam que uma alimentação deficiente em frutos e legumes aumenta o risco de desenvolvimento de doenças cardiovasculares e de cancro (Chen, 2008). Consequentemente, tem vindo a aumentar o interesse nos benefícios que poderão decorrer da inclusão destes alimentos na dieta, uma vez que os alimentos de origem vegetal são ricos em micronutrientes, contendo, também, uma enorme variedade de metabolitos secundários biologicamente activos (Kuskoski, 2005).

Neste âmbito, a tradicional "dieta mediterrânica", rica em frutos e legumes, é considerada uma das mais saudáveis, sendo esses alimentos ricos em hidratos de carbono complexos, fibras, vitaminas, minerais e numerosos antioxidantes protectores do sistema cardiovascular, sendo o dióspiro um fruto possuidor de todas essas características. Os efeitos benéficos do consumo do dióspiro estão relacionados com as suas elevadas propriedades antioxidantes (Alonso, 2004).

Nas últimas décadas, diversos estudos demonstraram que o consumo diário de alimentos ricos em antioxidantes naturais, particularmente em compostos polifenólicos, está associado à prevenção de doenças cardiovasculares, cancros e doenças neurodegenerativas, inclusive doenças de Parkinson e Alzheimer (Andrade, 2007; Jang, 2007; Javanmardi, 2006), aumentando, assim consideravelmente o interesse em encontrar antioxidantes naturais para o emprego em produtos alimentícios ou para uso farmacêutico, com o intuito de substituir antioxidantes sintéticos, os quais têm sido restringidos devido ao seu potencial carcinogénico (Degáspari, 2004). Muitos factores nutricionais são amplamente considerados como sendo críticos para a saúde humana. Entre eles, os radicais livres como oxigénio activo e espécies nitrogenadas têm sido motivo de preocupação, como uns dos factores que contribuem para doenças degenerativas crónicas (Patthamakanokpom, 2007). A acção protectora das plantas medicinais, frutos e vegetais pode ser atribuída à presença de antioxidantes, especialmente compostos polifenólicos e vitaminas antioxidantes, incluindo o ácido ascórbico, tocoferol, beta-caroteno, flavonóides, taninos, antocianinas, licopeno e outros constituintes fenólicos (Jang, 2007; Davis, 2003). O *Diospyrus Kaki* (cv. Caqui-chocolate) é um fruto altamente nutritivo em comparação com outros frutos, e estudos publicados citam o seu uso para fins

medicinais, desde os tempos antigos na China (Chen, 2008). O seu cultivo é mais propício em zonas temperadas. É um fruto muito cultivado não só em Portugal (em regiões como a Beira Litoral, Entre-Douro e Minho, Beira Interior e Algarve), mas também um pouco por toda a Europa, como Espanha, Itália e também na América do Sul, apesar de ser ainda desconhecido em muitos países europeus.

Considerando o facto de as árvores do género *Diospyrus* serem cultivadas em Portugal e Espanha em numerosas variedades (Schon, 1935) e devido à escassez de estudos sobre as características físico-químicas, composição fenólica e actividade antioxidante dos dióspiros de origem portuguesa, este estudo é de grande relevância.

Os carotenóides são responsáveis pela coloração vermelha, laranja e amarelo das folhas, frutos e flores, assim como das cores de alguns pássaros, insectos, peixes e crustáceos (Borghini, 2006). Actualmente, o grande interesse nos carotenóides de origem vegetal não é apenas devido à sua actividade na provitamina A, mas também devido à sua acção antioxidante sobre os radicais de oxigénio e à redução no *stress* oxidativo do organismo (Barba, 2006). O licopeno, um dos carotenóides mais descrito no fruto, é um importante antioxidante, por ser razoavelmente estável durante o armazenamento e processamento dos alimentos em que se encontra (Borghini, 2006). O ácido ascórbico é usado extensivamente na indústria alimentar, não só devido ao seu valor nutricional, mas devido às suas contribuições funcionais na qualidade do produto, restabelecendo o valor nutricional perdido durante o processamento e inibindo o escurecimento enzimático dos alimentos (Torales, 2008).

2. MATERIAIS E MÉTODOS:

2.1. MATERIAL

A colheita das amostras de dióspiros foi efectuada em pomares situados no Norte (Famalicão), no Centro (Guarda) e no Sul (Portimão) de Portugal Continental; no mês de Novembro de 2007, época da sua colheita para consumo, sendo conservadas congeladas até ao início do processo de investigação laboratorial.

Para cada amostra foram colhidas, manualmente, cerca de 1Kg de dióspiros por árvore, de forma aleatória e abrangendo toda a área da árvore. As amostras foram lavadas, secas com papel absorvente e divididas (com pele/sem pele). Todas as amostras foram picadas e trituradas em liquidificador doméstico, à velocidade máxima durante 1 minuto.

O armazenamento foi feito em frascos, hermeticamente selados, desprovidos de luz e humidade, de forma a evitar possíveis alterações dos parâmetros a analisar.

2.2. MÉTODOS

2.2.1. Análises físico-químicas

Os parâmetros de qualidade dos dióspiros foram avaliados a partir das análises físico-químicas realizadas no Instituto Politécnico de Saúde do Vale do Ave da CESPU, incluindo teor de água, pH, teor de sólidos solúveis totais, cor e actividade da água. Todas as análises químicas realizadas seguiram os procedimentos descritos pela Association of Official Analytical Chemistry, AOAC (1997).

2.2.2. Teor de água

O teor de água das amostras foi determinado por gravimetria, pesando-se 5g de cada amostra e secando-a em estufa (WTC binder TUTTLINGEN, Germany) a $105^{\circ}\text{C} \pm 1^{\circ}\text{C}$, seguido de pesagens regulares até peso constante. Os resultados foram expressos em percentagem (%) de água da amostra.

2.2.3. pH

O pH foi obtido pelo método electrométrico, com o auxílio do pHmetro Microprocessor Bench-top HI 8417, Hanna Instruments. A análise foi efectuada em triplicado e os resultados expressos em unidades de pH (1-14).

2.2.4. Teor de sólidos solúveis totais

Para a determinação do °Brix (sólidos solúveis totais por refractometria), foi utilizado o refratômetro tipo Abbe Refractometer, modelo 2WAJ, Shangai Optical Instrument Company.

2.2.5. Determinação colorimétrica (cor)

A cor foi medida por um colorímetro (Color Quest II Sphere, Hunter Lab), através do cálculo de °h (ângulo de cor), a partir das leituras de a^* , b^* , c^* e L^* de uma porção de amostra uniformemente homogeneizada.

2.2.6. Actividade da água (aW)

Para esta medição, recorreu-se ao medidor automático Hygropalm, marca Rotronic. A temperatura a que a análise foi efectuada foi constante, de $23.2^{\circ}\text{C} \pm 0.3^{\circ}\text{C}$. A aW é expressa pela razão de pressão de vapor de água da amostra sobre a pressão de vapor da água pura à mesma temperatura.

3. QUANTIFICAÇÃO DE COMPOSTOS BIOACTIVOS:

3.1. ÁCIDO ASCÓRBICO

Determinação segundo a Norma Portuguesa NP-3030, 1985. O método baseia-se na redução do 2,6-diclorofenol (DIP) pelo ácido ascórbico, expresso em mg ácido ascórbico/100g amostra. A quantidade de ácido ascórbico nas amostras foi obtida com base na curva padrão do ácido ascórbico ($y=1.121x - 2.652 \times 10^{-2}$, $r^2=0.99385$).

3.2. LICOPENO*

A determinação de licopeno nas amostras baseou-se no procedimento descrito por Borguini (2006). O teor de licopeno foi extraído a partir de uma homogeneização de 5g de amostra em 50 mL de uma solução hexano/acetona/etanol (2:1:1, v/v/v), para solubilização total dos carotenóides. Após agitação constante durante 30 minutos, adicionaram-se 10 mL de água destilada. A solução foi mantida em repouso, na ausência de luz, de forma a obter-se 2 fases distintas; 35 mL de fracção polar e 25 mL de fracção não-polar, a qual continha o licopeno.

$$\text{Licopeno (mg/100g)} = [(A \times V \times 10^6) / (3.450 \times M \times 100)] \quad (1)$$

Com V=volume de hexano (ml); M=massa da amostra aferida (g);
A=absorvância lida 472 nm; 3.450=coeficiente de extinção para o pigmento em n-hexano

A quantificação foi efectuada por colorimetria, utilizando um espectrofotómetro Shimadzu UV-2100 a 472 nm, usando o n-hexano como branco. Os resultados foram expressos em mg de licopeno/100g amostra, conforme a fórmula 1.

3.3. FENÓIS TOTAIS

A extracção dos compostos fenólicos baseou-se no método descrito por Sotero (2002) para processos de extracção sequencial em frutos. Após desidratação das amostras, pesou-se 1g adicionando-se 50 mL de solvente (MeOH a 80% e EtOH a 80%; v/v) e mantendo-se sob agitação constante durante 1 hora. A solução foi filtrada sob vácuo e o resíduo dissolvido no mesmo volume de solvente, totalizando-se 2 horas de extracção. Os filtrados foram combinados e o volume aferido para 100 mL.

O teor de fenóis totais foi obtido pelo método de Folin-Ciocalteu, a 720 nm por espectrofotometria (Shimadzu UV-2100), utilizando a catéquina (EC) como padrão. Misturaram-se 0.2 mL de extracto (obtido com MeOH a 80% e EtOH 80%) com 0.5 mL de reagente Folin-Ciocalteu, previamente diluído em 7 mL de água desionizada. A solução repousou durante 3 minutos à temperatura ambiente e, posteriormente, adicionaram-se 0.2 mL de solução saturada de carbonato de sódio. Esta solução final ficou reservada durante 120 minutos antes de se efectuarem as leituras das absorvâncias.

3.4. ACTIVIDADE ANTIOXIDANTE DOS FENÓLICOS TOTAIS

Para a determinação da acção antioxidante dos fenóis totais, recorreu-se ao método descrito por Jang (2007), através do radical livre 2,2-difenil-1-picrilhidrazil (DPPH). A 5 mL de solução 0,03g/dm³ de DPPH em metanol, adicionaram-se 0.05 mL de cada extracto. Os solventes utilizados para as extracções foram ambos utilizados como controlo. A leitura dos valores de absorvância foi efectuada a 517 nm por espectrofotometria (Shimadzu UV-2100), após reacção durante 30 minutos no escuro. Para avaliar a capacidade de captação do radical, calculou-se a percentagem de inibição de radicais livres, mediante fórmula 2.

$$\% \text{ de descoloração DPPH} = [(Abs_{\text{controlo}} - Abs_{\text{amostra}}) / Abs_{\text{controlo}}] \times 100 \quad (2)$$

3.5. ANÁLISE ESTATÍSTICA

Todos os resultados obtidos foram avaliados através de análise de variância (ANOVA), a partir de ensaios em triplicado em cada determinação, fazendo-se a análise das médias dos resultados para um nível de 5% de significância.

4. RESULTADOS E DISCUSSÃO

O conjunto dos compostos presentes em cada fruto e a sua avaliação quantitativa e individual constituem uma "impressão digital", neste caso, um perfil químico, que caracteriza cada fruto. Este perfil não é constante e são diversos os factores que condicionam a sua variação. Outros factores que podem ter influência no perfil químico são o clima, a exposição solar, a natureza do solo, as técnicas agrícolas utilizadas, a idade da árvore, entre outros.

Os resultados das análises físico-químicas estão apresentados na Tabela 1. Com base nos resultados, verifica-se que o teor de água médio, característico do fruto, é de 80%, verificando-se que as amostras sem pele apresentam maiores teores de água (80.3% a 82.4%) do que as amostras com pele ou inteiras (79.1% a 80.1%). Quanto aos valores de pH, realçam-se as amostras colhidas a Norte de Portugal, apresentando relevância estatística ($p < 0.05$) em comparação com as amostras colhidas no Centro e Sul. Os valores no inteiro e polpa do Norte apresentam valores de 6.05 e 5.95, respectivamente, e as amostras do Sul apresentam valores mais baixos, 5.66 na amostra inteira e 5.68 na polpa. A actividade da água apresentou valores semelhantes em todas as amostras, podendo-se afirmar que os valores médios para os dióspiros *cv.* Caqui-chocolate são de 0.955, no entanto, no que se refere ao teor de sólidos solúveis, as amostras do Centro (Guarda) apresentaram relação estatística ($p < 0.05$) entre as amostras com pele e sem pele, não tendo sido observada essa mesma relação nas amostras do Norte e Sul (Famalicão e Portimão,

respectivamente). Em relação à determinação do ângulo de cor ($^{\circ}h$), deve-se referir que um ângulo de 180° representa a cor verde pura e um ângulo de 0° o vermelho puro. Assim, em colorimetria, quanto maior for o ângulo de cor, mais verde se apresenta o fruto, e quanto menor o ângulo, mais vermelha é a sua tonalidade. Mediante análise estatística, verificou-se que não existe significância ($p > 0.05$) entre as amostras quando comparadas mediante as áreas geográficas de cultivo. No entanto, torna-se importante referir que todas as amostras de polpa de dióspiros apresentaram um ângulo maior do que as amostras inteiras, com a excepção das duas amostras do Sul, onde isso não se verificou. O valor de $^{\circ}h$ para a amostra de polpa do Sul apresentou um menor ângulo do que o fruto inteiro do Sul (74.93 e 79.20, respectivamente), reforçando a ideia que o clima e a exposição solar têm influência na caracterização organoléptica do fruto.

Tabela 1. Valores médios obtidos para as amostras de dióspiros (inteiro e polpa, por área geográfica de cultivo)

Parâmetros Químicos	Amostras	Regiões de cultivo de Portugal		
		Norte* (Famalicão)	Centro* (Guarda)	Sul* (Portimão)
Teor de água (%) *	Inteiro	79.5±0.04 ^{aA}	80.1±0.06 ^{aA}	79.4±0.19 ^{aA}
	Polpa	82.4±0.08 ^{aA}	80.0±0.03 ^{aA}	80.3±0.07 ^{aA}
pH	Inteiro	6.05±0.02 ^{aA}	5.86±0.05 ^{aB}	5.66±0.01 ^{aC}
	Polpa	5.95±0.07 ^{aA}	5.90±0.06 ^{aB}	5.68±0.02 ^{aC}
Sólidos solúveis totais ($^{\circ}Brix$)	Inteiro	1.90±0.00 ^{aA}	1.80±0.01 ^{aA}	1.85±0.02 ^{aA}
	Polpa	1.90±0.01 ^{aA}	1.90±0.01 ^{bA}	1.85±0.02 ^{aA}
Ângulo de cor ($^{\circ}h$)	Inteiro	77.7±0.24 ^{aA}	73.3±1.04 ^{aA}	79.2±0.87 ^{aA}
	Polpa	81.2±0.38 ^{aA}	78.6±0.67 ^{aA}	74.9±0.29 ^{aA}
αW (%)	Inteiro	0.957±0.00 ^{aA}	0.952±0.01 ^{aA}	0.952±0.00 ^{aA}
	Polpa	0.954±0.00 ^{aA}	0.951±0.00 ^{aA}	0.958±0.01 ^{aA}

* Valores expressos em média±desvio padrão, a partir de ensaios realizados em triplicado. ^aValores com letras minúsculas iguais na mesma coluna, considerando-se amostras inteiro e polpa, indicam que não houve diferenças estatisticamente significativas entre as médias ao nível de 5%. ^AValores com letras maiúsculas iguais na mesma linha, considerando-se a área de cultivo, indicam que não houve diferenças estatisticamente significativa entre as médias ao nível de 5%.

Os compostos fenólicos e os carotenóides estão directamente relacionados com as características organolépticas do fruto, nomeadamente na cor e sabor. A determinação dos níveis de

compostos fenólicos totais em tecidos vegetais é a etapa inicial de qualquer investigação de funcionalidade fisiológica para posterior estímulo ao consumo (Furlong, 2003). Examinando os resultados apresentados na Tabela 2, verificou-se que os dióspiros com pele das regiões Norte e Centro possuem maior quantidade de ácido ascórbico do que as amostras sem pele obtidas nas mesmas regiões, variando entre 0.9479 mg/100g a 1.3079 mg/100g e de 0.6834 mg/100g a 1.1271 mg/100g, respectivamente.

Tabela 2. Valores obtidos dos compostos bioativos dos dois tipos de preparação efectuada.

(inteiro e polpa) para frutos colhidos nas três regiões em estudo e quantificados sem método de extração

Regiões de cultivo de Portugal				
Definições	Amostras	Norte(Famalicão)*	Centro(Guarda)*	Sul(Portimão)*
Ácido ascórbico (mg/100g)	inteiro	0.9479±0.02 ^{aA}	1.3079±0.07 ^{aA}	1.1268±0.01 ^{aA}
	polpa	0.6834±0.05 ^{aA}	1.1271±0.04 ^{aA}	1.1290±0.07 ^{aA}
Licopeno (mg/100g)	inteiro	4.418±0.09 ^{aA}	7.295±0.04 ^{aB}	8.064±0.03 ^{aC}
	polpa	3.635±0.04 ^{bA}	4.986±0.01 ^{bB}	5.349±1.2 ^{bC}

*Valores expressos em média±desvio padrão, a partir de ensaios realizados em triplicado. ^{aB}Valores com letras minúsculas iguais na mesma coluna, considerando-se amostras com pele e sem pele, indicam que não houve diferenças estatisticamente significativas entre as médias ao nível de 5%. ^{A,B,C}Valores com letras maiúsculas iguais na mesma linha, considerando-se a área de cultivo, indicam que não houve diferenças estatisticamente significativas entre as médias ao nível de 5%.

As amostras do Sul são as que manifestam menor diferença entre elas, apresentando teores muito semelhantes para a amostra com pele (inteira) (1.1268 mg/100g) e amostra sem pele (polpa) (1.1290mg/100g). Pela análise estatística não foi encontrada nenhuma significância entre as amostras; no entanto, é de realçar que a diferença entre os valores de vitamina C, das amostras inteiras e das respectivas polpas, vai diminuindo mediante a região, ou seja, de Norte para Sul. Em relação à concentração de licopeno, pode-se afirmar que este carotenóide é variável entre as amostras analisadas, numa gama entre 3.635 mg/100g e 8.064 mg/100g, encontrando-se sempre em maior quantidade nas amostras inteiras do que em polpa, verificando-se, nestes casos, significância estatística ($p < 0.05$). Um aspecto interessante que deve ser focado deve-se ao aumento dos teores de licopeno nas amostras colhidas em diferentes regiões, isto é, o teor de licopeno aumenta, em ambas as amostras estudadas, à medida que se desloca para o Sul, o que reforça os resultados publicados por outros autores, nomeadamente, Kim (2006) e Takahashi (2006), que estudaram

dióspiros. Estes autores evidenciaram os aumentos de concentrações de carotenóides e polifenóis nas peles dos frutos face aos encontrados nas polpas e concluíram que as mesmas concentrações apresentavam uma relação directa com as regiões de plantio, nomeadamente com as que apresentavam maior exposição solar.

As pesquisas referem que a actividade antioxidante dos frutos está relacionada com o conteúdo em compostos fenólicos (Cheung *et al.*, 2003; Martínez-Valverde *et al.*, 2002).

Tabela 3. Teor de compostos fenólicos totais expressos em mg de equivalente de catequina (EC) por 100g de fruto (mgEC/100g), mediante o tipo de amostra (inteiro e polpa), obtidos por extracção metanólica (MeOH 80%) e etanólica (EtOH80%)

Regiões de cultivo de Portugal				
Amostras	Solvente extracção	Norte*	Centro*	Sul*
Inteiro	EtOH (80%)	24.2±0.16 ^{aA}	20.4±0.04 ^{aB}	92.2±0.20 ^{aC}
	MeOH(80%)	19.0±1.40 ^{bD}	43.0±1.20 ^{bE}	114.6±0.23 ^{bF}
Polpa	EtOH (80%)	18.6±0.08 ^{cA}	18.4±0.99 ^{cB}	66.4±1.45 ^{cC}
	MeOH(80%)	14.2±3.10 ^{dD}	36.2±1.99 ^{dE}	99.0±2.64 ^{dF}

*EC, equivalente de catequina (padrão). *Valores expressos em médias±desvios padrão por meio de ensaios em triplicado. ^{a,b,c,d} Valores com letras minúsculas iguais na mesma coluna, considerando-se amostras com pele e sem pele, indicam que não houve diferenças estatisticamente significativas entre as médias ao nível de 5%. ^{A,B,C,D,E,F} Valores com letras maiúsculas iguais na mesma linha, considerando-se a área de cultivo, indicam que não houve diferenças estatisticamente significativas entre as médias ao nível de 5%.

Pelos valores apresentados na Tabela 3, verifica-se que as amostras com pele apresentam valores superiores aos obtidos pelas amostras desprovidas da mesma, em que as concentrações variam entre 19.0 e 114.6 mg/100g para amostras com pele e de 14.2 e 99.0 mg/100g em amostras sem pele. Verifica-se, também, a existência de uma variação nas concentrações de fenólicos totais entre os frutos cultivados em diferentes regiões, verificando-se uma significância estatística ($p < 0.05$) entre as mesmas. Na verdade, os dióspiros cultivados a Sul apresentam teores de fenólicos totais bastante superiores aos do Centro e Norte, sendo os frutos do Norte os que contém menores teores de fenólicos totais.

Do método de extracção utilizado e dos solventes usados na extracção, torna-se, evidente que o metanol (MeOH) apresenta uma taxa de recuperação fenólica muito superior ao apresentado pelo etanol (EtOH). Estes resultados estão em consonância com os dados científicos publicados por Takeota *et al.* (2001), o qual referiu

o metanol como melhor solvente para extracções de fenólicos totais.

A avaliação da actividade antioxidante pelo método do DPPH baseia-se no sequestro de radicais livres reconhecidos pelas espécies antioxidantes. Segundo Leong e Shui (2002), este método tem sido uma ferramenta útil para avaliar a capacidade antioxidante dos frutos. Os níveis de inibição da descoloração do DPPH pelo antioxidante sintético BHT foram aplicados como controlo positivo para a comparação entre as amostras e para a validação do método. Na Figura 1 encontram-se representados os valores obtidos através dos extractos das amostras e entre as amostras cultivadas nas diferentes regiões de Portugal.

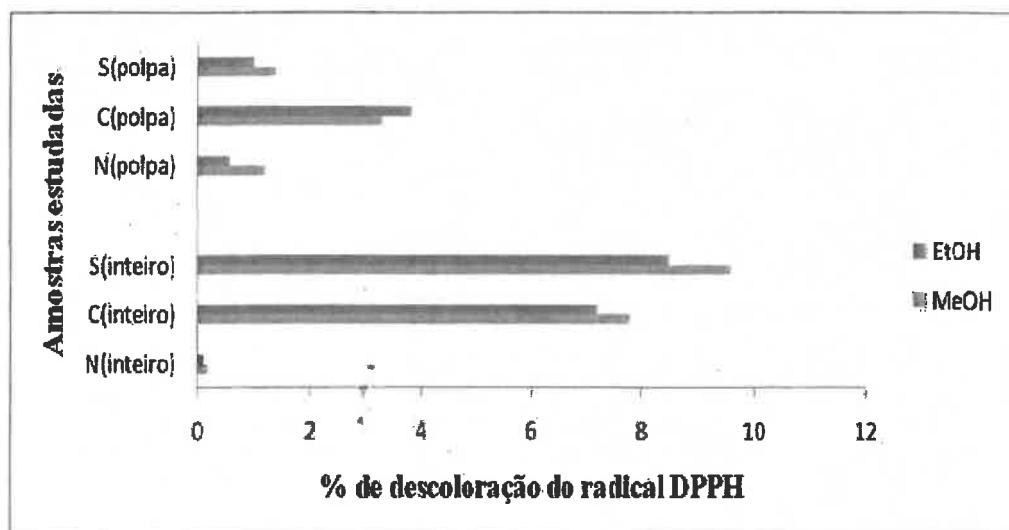


Figura 1: Actividade antioxidante (% de descoloração do DPPH) do extracto metanólico e etanólico (0.1 mg/mL)

Obtido a partir de diferentes amostras (inteiro e polpa) colhidas nas diferentes regiões estudadas, Norte, Centro e Sul

Mediante observação da Figura 1, no que se refere ao estudo da acção antioxidante, torna-se visível a diferença da acção quelante dos agentes antioxidantes, manifestamente representadas pelas amostras com pele provenientes do Centro e do Sul de Portugal.

Os valores obtidos variam entre 0.1 % e 9.6%, no entanto, verifica-se que a taxas maiores correspondem às amostras inteiras, o que reforça o que foi dito anteriormente, pois a pele contém altos teores de licopeno e fenóis totais, compostos bioactivos e com acção antioxidante. As amostras colhidas no Norte foram as que

apresentaram menores valores de taxa de inibição, quer a nível da amostra com pele, quer a amostra sem pele (0.2% e 1.2%, respectivamente). Mais uma vez, verifica-se que o estudo da acção antioxidante está directamente relacionado com o teor de compostos fenólicos totais; dando mais ênfase à importância do processo e ao solvente de extracção. Pela Figura 1, torna-se fácil verificar, mais uma vez, a capacidade extractiva do metanol. Pela análise estatística verificou-se uma relação entre as concentrações de fenólicos totais e a actividade antioxidante dos mesmos, assim como existe relação entre a proveniência dos dióspiros e a actividade antioxidante ($p < 0.0001$).

5. CONCLUSÃO

Ao verificar o crescente sedentarismo da população e os seus distúrbios alimentares, o aumento da poluição a nível mundial, as doenças que advêm desses factores e uma análise cuidada deste estudo, pode-se concluir que cada vez mais deve haver uma preocupação em praticar uma correcta alimentação, como a dieta Mediterrânica, que prima pelo alto consumo de frutas e legumes, alimentos esses que contêm elevados níveis de compostos antioxidantes, benéficos para a saúde, sendo o caso do ácido ascórbico, o licopeno e demais compostos fenólicos. Considerando o dióspiro um fruto que possui todas essas características, revelou-se ter sido importante o seu estudo.

Os resultados obtidos na presente pesquisa permitem concluir que existem padrões físico-químicos, como o teor de água, o pH, o ângulo de cor, a actividade da água e o teor de sólidos solúveis totais, em que os seus valores são comuns aos dióspiros das regiões em estudo, e mesmo ao modo de preparação antes de consumo.

Pode-se também concluir que, ao retirar a pele do dióspiro antes da sua ingestão, a quantidade de compostos antioxidantes (ácido ascórbico, licopeno e fenólicos totais) disponíveis para absorção intestinal é menor do que se o dióspiro for ingerido *in natura* (com pele). Mais se conclui que a região onde se plantam dióspiros é igualmente importante na biodisponibilidade dos compostos antioxidantes no dióspiro, sendo os dióspiros da região

Sul detentores de quantidades superiores na maioria desses compostos.

BIBLIOGRAFIA

- Alonso, M. G.; Teresa, S. P.; Buelga, S. C.; Gonzalo, J. C. R. "Evaluation of the antioxidant properties of fruits." *Food Chemistry*. 84 (2004), 13-18.
- Andrade, C. A.; Costa, C. K.; Bora, K.; Miguel, M. D.; Miguel, O. G.; Kerber, V. A. "Determinação do conteúdo fenólico e avaliação da atividade antioxidante de *Acacia podalyriifolia* A. Cunn. ex G. Don, Leguminosae-mimosoideae." *Revista Brasileira de Farmacognosia*. 17 (2007), 2:231-235.
- Barba, A. I. O.; Hurtado, M. C.; Mata, M. G. S.; Ruiz V. F.; Sáenz de Tejada, M.L. - Application of a UV-vis detection-HPL method for a rapid determination of lycopene and β -carotene in vegetables. *Food Chemistry*. 95 (2006) 328-336.
- Borguini, Renata. Avaliação do Potencial Antioxidante e de algumas características físico-químicas do tomate (*Lycopersicon esculentum*) orgânico em comparação ao convencional, Universidade de São Paulo, Faculdade de Saúde Pública, São Paulo, 2006.
- Chen, X. N., Fan, J. F., Yue, X., Wu, X. R., Li, L. T. "Radical Scavenging Activity and Phenolic Compounds in Persimmon (*Diospyros kaki* L. cv. Mopan)." *Journal of Food Science*. 73 (2008), 1:24-28.
- Cheung, L.M.; Cheung, P.C.K.; Ooi, V.E.C. "Antioxidant activity and total phenolics of edible mushroom extracts." *Food Chemistry* 80 (2003), 2: 249-255.
- Davis, A. R.; Fish, W. W.; Perkins-Veazie, P. "A rapid spectrophotometric method for analyzing lycopene content in tomato and tomato products." *Postharvest Biology and Technology*. 28 (2003), 425-430.
- Degaspari, C. H.; Waszczyński, N.; Santos, R. J. "Antioxidant activity of extracts from fruit of arbeira (*Schinus terebinthifolius* Raddl)." *Visão Acadêmica*. Curitiba. 5 (2004), 2:83-90.
- Furlong, E. B.; Colla, E.; Bortolato, D. S.; Baisch, A. L. M.; Souza-Soares, L. A. "Avaliação do potencial de compostos fenólicos em tecidos vegetais." 13 (2003), 105-114.
- Jang, H.-D.; Chang, K.-S.; Huang, Y.-S.; Hsú, C.-L.; Lee, S.-H.; Su, M.-S. "Principal phenolic phytochemicals and antioxidant activities of three Chinese medicinal plants." *Food Chemistry*. 103 (2007), 749-756.
- Javanmardi, J.; Kubota, C. "Variation of lycopene, antioxidant activity, total soluble solids and weight loss of tomato during postharvest storage." *Postharvest Biology and Technology*. 41 (2006), 151-155.
- Kim, S.-Y., Jeong, S.-M., Kim, S.-J., Jeon, K.-I., Park, E., Park, H.-R., Lee, S.-C. "Effect of heat treatment on the antioxidative and antigenotoxic activity of extracts from persimmon (*Diospyros kaki* L.) peel." *Biosci. Biotechnol. Biochem.* 70 (2006), 4: 999-1002.
- Kuskoski, E. M.; Asuero, A. G.; Troncoso, A. M.; Mancini-Filho, J.; Fett, R. "Aplicación de diversos métodos químicos para determinar actividad antioxidante en pulpa de frutos." *Ciência e Tecnologia dos Alimentos*. 25 (2005), 4:726-732.
- Leong, L.P.; Shui, G. "An investigation of antioxidant capacity of fruits in Singapore markets." *Food Chemistry*. 90(2002), 76: 69-75.

- Martinez-Valverde, I.; Periago, M.J.; Provan, G. "Phenolic compounds, lycopene and antioxidant activity in commercial varieties of tomato (*Lycopersicon esculentum*)." *J Sci Food Agric* 82 (2002), 3:323-330.
- NP-3030:1985 FRUTOS, PRODUTOS HORTÍCULAS E SEUS DERIVADOS. Determinação do teor de ácido ascórbico. Processos correntes.
- Patthamakanokpom, O.; Puwastien, P.; Nitithamyong, A.; Sirichakwal, P. P. "Changes of antioxidant activity and total phenolic compounds during storage of selected fruits." *Journal of Food Composition and Analysis*. (2007).
- Schon, K. - CCIX. Studies on Carotenoids. I. The Carotenoids of Diospyros Fruits. II. The Carotenoids of Arbutus Fruits (*Arbutus Unedo*). From the Laboratório de Química-Física e Química-Biológica, Universidade de Coimbra, Portugal. *Biochem* 113(1935) 1779-1785.
- Sotero, D.E.G. Caracterização química e avaliação da actividade antioxidante dos frutos da Amazónia (*Gustavia augusta* L.), sacha mangua (*Grias meubertii* Macbr.) e macambo (*Theobroma bicolor*). São Paulo; 2002.
- Takahashi, M.; Watanabe, H.; Kikkawa, J.; Ota, M.; Watanabe, M.; Sato, Y.; Inomata, H.; Sato, N. "Carotenoids extraction from japanese persimmon (Hachiyakaki) peels by supercritical CO₂ with ethanol." *Analytical Sciences*. 22 (2006) 1441-1447.
- Takeota, G.R.; Dao, L.; Flessa, S.; Gillespie, D.M.; Jewell, W.T.; Huebner, B.; Bertow, D.; Ebeler, S.E. "Processing effects on lycopene content and antioxidant activity of tomatoes." *J Agric Food Chem* (2001), 49: 3713-3717.
- Toralles, R. P.; Vendruscolo, J. L.; Vendruscolo, C. T.; Del Pino, F. A. B.; Antunes, P. L. "Determinação das constantes cinéticas de degradação do ácido ascórbico em puré de pêsego: efeito da temperatura e concentração." *Ciência e Tecnologia de Alimentos*. 28 (2008), 1: 18-23.