

# **EFEITO DO PROCESSAMENTO E DO ARMAZENAMENTO NOS TEORES DE FENÓIS TOTAIS E FLAVONÓIDES TOTAIS EM POLPA DE TOMATE CONCENTRADA**

BRUNA L. F. **LOPES**<sup>1</sup>, EDUARDO **VICENTE**<sup>2</sup>, ADRIANA B. **ALVES**<sup>3</sup>

N°0801031

## **RESUMO**

Devido ao seu grande consumo, os produtos de tomate são uma importante fonte de compostos fenólicos na dieta humana. Esses compostos são potentes antioxidantes e têm sido associados à redução de diversas doenças degenerativas como câncer e Alzheimer. O objetivo deste trabalho foi avaliar o efeito do processamento e do armazenamento sobre os teores de fenóis totais e flavonóides totais em polpa de tomate concentrada. Durante o processamento observou-se um aumento dos teores de fenóis e flavonóides totais, fato que pode ser explicado devido às transformações bioquímicas que ocorrem durante o processamento, como hidrólise dos glicosídeos e liberação dos compostos fenólicos da matriz. Por outro lado, o armazenamento da polpa de tomate por doze meses resultou em uma diminuição significativa nos níveis de fenóis e flavonóides totais.

## **ABSTRACT**

Because of its high consumption, tomato products are an important source of phenolics in human diet. These compounds are good antioxidants and have been associated with lower risk of degenerative diseases like cancer and Alzheimer. The aim of this study was to evaluate the effect of processing and storage of concentrated tomato pulp on total phenols and total flavonoids contents. During the processing an increase of total phenols and flavonoids was observed, fact that can be explained by the biochemists transformations that occur during the processing, as hydrolysis of the glycosides and release of phenolics composites of the cellular matrix. The storage of tomato pulps for twelve months resulted in a significant reduction in the levels of total phenols and total flavonoids contents.

1. Bolsista CNPq: Graduação em Engenharia de Alimentos, FEA/UNICAMP, Campinas-SP, ✉ brunalet@fea.unicamp.br

2. Orientador: Pesquisador, CENTRO DE QUÍMICA - ITAL, Campinas-SP

3. Colaborador: Assistente, CENTRO DE QUÍMICA - ITAL, Campinas - SP, ✉ drialves@ital.sp.gov.br.

## INTRODUÇÃO

Os compostos polifenólicos são potentes antioxidantes, interceptores de radicais livres, agentes quelantes de metais e inibidores de peroxidação lipídica (Escarpa & Gonzalez, 2001). Os flavonóides, compostos fenólicos de peso molecular intermediário, têm ação antioxidante, minimizando a peroxidação lipídica e o efeito dos radicais livres (Kinsella *et al.*, 1993). Algumas propriedades vêm sendo atribuídas aos flavonóides como prevenção de inflamação, alergias e câncer, além da redução da pressão arterial e regulação do ritmo cardíaco. Devido ao alto poder antioxidante eles protegem a camada lipo-protéica interna das artérias (Escarpa & Gonzalez, 2001).

O tomate é um dos vegetais mais consumidos no mundo, não só na forma *in natura*, mas também na forma de produtos processados. Estudos recentes encontraram quantidades significativas de flavonóides em tomates. Quantidades maiores foram encontradas após a hidrólise ácida, indicando que a maior parte dos flavonóis presentes no tomate encontra-se sob a forma glicosídica. (Crozier, 1997; Stewart *et al.*, 2000).

Vários estudos demonstraram que pode ocorrer variação no nível de fenóis totais e flavonóides totais em produtos de tomate processados. Geralmente, os produtos processados são vistos como detentores de menor valor nutricional em comparação aos vegetais e frutas frescas devido à perda de compostos nutricionais, como as vitaminas, durante o processamento. Mas, ao contrário do que se acredita, estudos mostram que o teor de compostos antioxidantes aumenta. (Chang *et al.*, 2006). Durante processos como secagem, cozimento, tratamento térmico, ocorre uma perda de ácido ascórbico. Em contra partida, os teores de compostos fenólicos totais, flavonóides totais e licopeno aumentam, fazendo com que a atividade antioxidante também aumente (Dewanto *et al.*, 2002). Outro estudo observou um efeito pequeno do cozimento em água a 100°C por 15 min e o forneamento a 200°C por 18 min sobre os teores de fenóis totais, enquanto que a fritura em azeite de oliva a 110°C por 4 min reduziu significativamente os teores desses compostos (Sahlin *et al.*, 2004).

Os flavonóis do tomate também são estáveis durante a estocagem, sendo encontrados em diversos produtos processados. Giovanelli *et al.* (2001) detectaram um pequeno aumento nos teores de fenóis totais em polpa e purê de tomate estocados a 40°C; neste mesmo estudo não foi observada alterações nos teores de fenóis totais em extrato de tomate.

## MATERIAIS E MÉTODOS

### MATERIAIS

As amostras foram fornecidas por uma indústria processadora de tomates da região de Campinas/SP e foram coletadas em três momentos distintos: início, meio e fim da safra, o que compreendeu os meses de julho a setembro de 2006. As amostras foram coletadas em diferentes etapas do processamento para obtenção de polpa de tomate concentrada: (1) tomate *in natura*, (2) após inativação enzimática (*hot break*), (3) após despulpamento, (4, 5 e 6) após 1ª, 2ª e 3ª concentração e (7) após envase. Também foi coletada uma amostra do subproduto (pele+semente) (8). Todas as amostras foram congeladas no momento da coleta e liofilizadas. Em cada coleta também foram tomados 13 “bags” consecutivos de produto final para a avaliação da estocagem. Um “bag” foi aberto no primeiro dia subsequente à coleta e os demais foram armazenados à temperatura ambiente. Mensalmente, um “bag” foi tomado para análise até completar 1 ano. Depois de aberto o “bag”, a amostra foi congelada e liofilizada. As amostras liofilizadas foram armazenadas a -20°C até o momento da análise. As análises foram realizadas em espectrofotômetro de UV/Vis Varian Cary 50. Os reagentes utilizados foram: reagente para fenol segundo Folin-Ciocalteu, carbonato de sódio p.a., nitrito de sódio p.a., cloreto de alumínio p.a., hidróxido de sódio p.a.; metanol e etanol grau cromatográfico; ácido gálico e rutina (Sigma-Aldrich).

### MÉTODOS

#### **Obtenção dos extratos fenólicos e purificação dos flavonóides (*Clean up*)**

Para obtenção dos extratos fenólicos foi utilizada uma metodologia otimizada e validada no Laboratório de Bromatologia do Centro de Ciência e Qualidade de Alimentos (Banhara *et al.*, 2007) que consiste em: Pesar 1,5 g de amostra liofilizada. Extrair com 50 mL de uma solução de etanol 60% contendo 0,1 % de ácido acético, através da agitação por 1,5 minutos em *ultra turrax* e filtrar, recolhendo o filtrado em um balão de 250 mL; repetir mais 2 vezes essa extração, reunindo os filtrados; evaporar o extrato em evaporador rotativo a 45°C e transferir o concentrado para um balão volumétrico de 50 mL e completar o volume com água deionizada. Neste extrato foi determinado o teor de fenóis totais.

A purificação dos flavonóides em coluna de extração em fase sólida (*Clean up*), foi feita de acordo com o procedimento a seguir: Tomar uma alíquota de 20 mL do extrato fenólico e adicionar a uma coluna de poliamida (1g/6mL) pré condicionada com 20 mL de metanol e 60 mL de água deionizada. Lavar a coluna com 20 mL de água deionizada e descartar todos os eluatos. Eluir os flavonóides da coluna com 50 mL de

metanol, recolhendo o eluato em um balão de 100 mL. Evaporar o metanol em evaporador rotativo a 45°C até *secura*. Retomar o extrato em 5 mL de metanol. Este extrato purificado foi utilizado para a determinação de flavonóides totais.

#### **Determinação do teor de fenóis totais**

A determinação dos compostos fenólicos totais foi feita segundo Singleton & Rossi (1965) adaptada por Kim *et al.*(2003), conforme segue: Pipetar 0,5 ml do extrato fenólico e transferir para um tubo de ensaio contendo 9,5 ml de água deionizada. Adicionar 1 ml do reagente de Folin-Ciocalteu e misturar. Após 5 minutos, adicionar 10 ml de carbonato de sódio 7% p/v e misturar. Em seguida, completar o volume para 25 ml com água deionizada. Tampar o tubo e agitar em agitador tipo “vortex” por 20 segundos e incubar por 90 minutos à temperatura ambiente no escuro. Fazer a leitura da absorbância em 750 nm contra um branco. Ácido gálico foi utilizado como padrão e os resultados foram expressos em termos de equivalente de ácido gálico (mg EAG.100g<sup>-1</sup>).

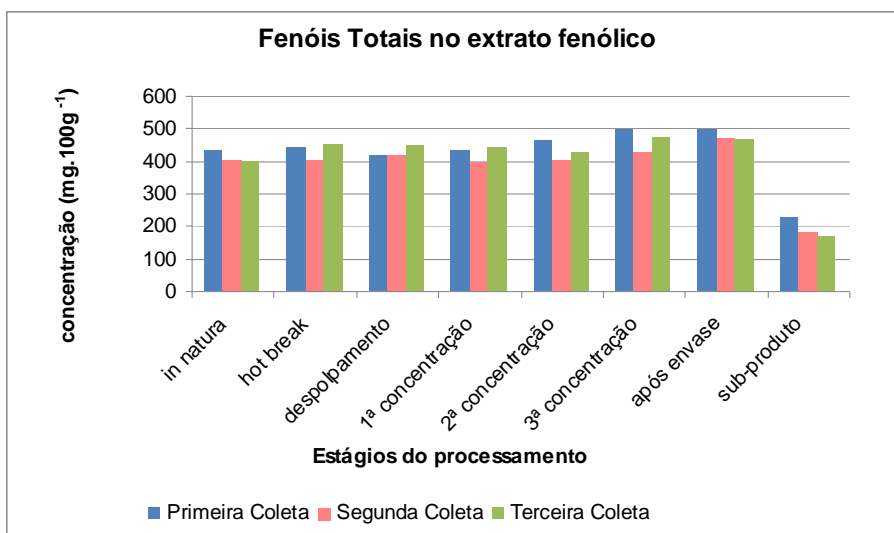
#### **Determinação de teor de flavonóides totais**

Os teores de flavonóides totais foram determinados de acordo com a metodologia descrita por Zhishen *et al.* (1999) modificada no Laboratório de Bromatologia do Centro de Ciência e Qualidade de Alimentos (Banhara *et al.*, 2007), conforme segue: Pipetar 1 ml do extrato purificado e transferir para um tubo de ensaio contendo 4 ml de água deionizada. Adicionar 0,3 ml de NaNO<sub>2</sub> 5%. Após 5 minutos, adicionar 0,3 ml de AlCl<sub>3</sub> 10%. Após 6 minutos, adicionar 2 ml de NaOH 2M e completar o volume com água deionizada. Tampar o tubo e agitar em agitador tipo “vortex” por 20 segundos. Fazer a leitura da absorbância a 510 nm contra um branco. Rutina foi utilizada como padrão e os resultados foram expressos em equivalente de rutina (mg ER.100g<sup>-1</sup>).

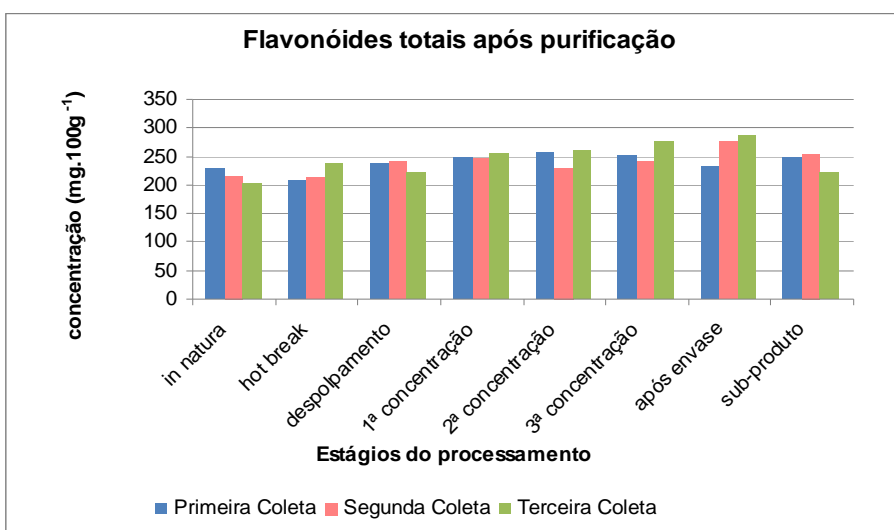
## **RESULTADOS E DISCUSSÃO**

### **Efeito do processamento sobre os teores de fenóis totais e flavonóides totais**

As figuras 1 e 2 permitem uma avaliação comparativa dos resultados de fenóis totais no extrato fenólico e flavonóides totais após purificação, obtidos para as diferentes etapas do processamento nas três coletas realizadas.



**FIGURA 1.** Fenóis totais no extrato fenólico expresso em mg EAG.100g<sup>-1</sup>.



**FIGURA 2.** Flavonóides totais após purificação expresso em mg ER.100g<sup>-1</sup>.

Os resultados mostram que tanto para fenóis totais quanto para flavonóides totais, os teores encontrados no produto final (após envase) são significativamente maiores que os encontrados no produto *in natura*. Esse aumento pode ser explicado pelas transformações bioquímicas que podem acontecer durante o processamento, assim como foi observado por Chang *et al.* (2006) durante a secagem de tomates.

Presume-se que o processamento dos alimentos pode acelerar a liberação dos compostos fenólicos da matriz, a partir da quebra dos constituintes celulares (Chang *et al.*, 2006). O aumento do teor de fenóis totais também pode ser explicado pela hidrólise das formas glicosídicas que é favorecida pelo meio ácido (Giovannelli *et al.*, 2001).

As amostras analisadas do subproduto (pele + semente) apresentaram as menores concentrações de fenóis e flavonóides totais. Embora alguns estudos indiquem que estes compostos são principalmente armazenados na pele no tomate, durante o processamento pode ocorrer a liberação dos mesmos e a sua transferência para a polpa. Como o subproduto não sofre processamento térmico posterior e é armazenado sem cuidados específicos com a luminosidade e exposição ao ar, deve ser considerada a possibilidade de oxidação dos compostos fenólicos nesta amostra.

### Efeito da estocagem sobre os teores de fenóis totais e flavonóides totais

As figuras 3 e 4 mostram a variação nos teores de fenóis e flavonóides totais do produto final durante os 12 meses de armazenamento.

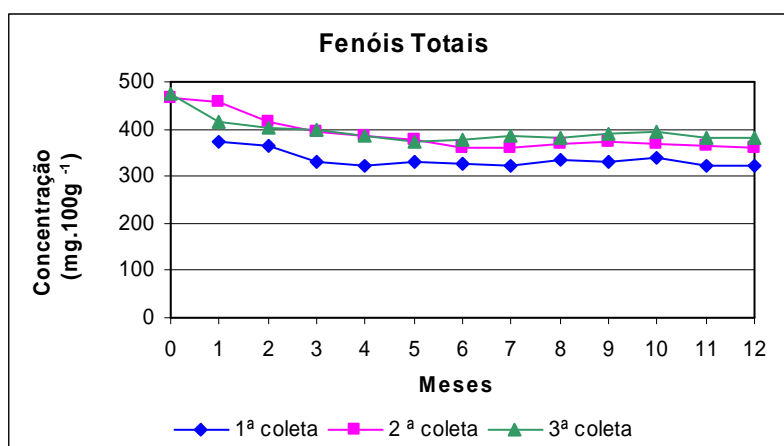


Figura 3. Fenóis totais expresso em mg EAG.100g<sup>-1</sup> durante a estocagem.

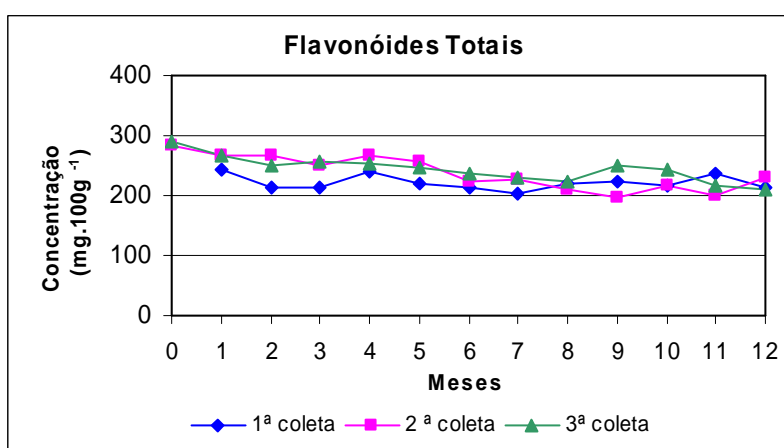


Figura 4. Flavonóides totais após purificação expresso em mg ER.100g<sup>-1</sup> durante a estocagem.

Analisando os resultados obtidos, nota-se que há uma tendência de diminuição nos teores de fenóis totais e flavonóides totais durante a estocagem. Segundo a literatura,

os flavonóides do tomate são estáveis durante a estocagem, sendo encontrados em diversos produtos processados. Giovanelli *et al.* (2001) detectaram um pequeno aumento nos teores de fenóis totais em polpa e purê de tomate estocados a 40°C; neste mesmo estudo não foi observada alterações nos teores de fenóis totais em pasta de tomate. Um estudo acelerado de vida-de-prateleira em polpa, purê e pasta de tomate observou um aumento no teor de fenóis totais durante a estocagem a temperatura maior ou igual a 40°C, o que pode estar relacionado com a hidrólise de glicosídeos. Os compostos fenólicos se apresentaram estáveis a temperaturas menores que 40°C (Lavelli *et al.*, 2003).

## **CONCLUSÃO**

O presente trabalho mostrou que o processamento resultou em um aumento dos teores dos compostos fenólicos flavonóides totais. Os resultados obtidos estão em concordância com dados encontrados na literatura que mostram que os teores de fenóis e flavonóides totais aumentam nos produtos processados

Contrariando a literatura que diz que os compostos fenólicos são estáveis durante a estocagem, o armazenamento por 12 meses a temperatura ambiente resultou em uma diminuição significativa dos teores dos compostos fenólicos totais e dos flavonóides totais.

## **REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS**

- BANHARA, B. R.; VICENTE, E; ALVES, A. B. Otimização de metodologia para determinação de compostos fenólicos totais e flavonóides totais em polpa de tomate. **Anais do Congresso Interinstitucional de Iniciação Científica**, Campinas-SP, 2007.
- CHANG, C-H.; LIN, H-Y.; CHANG, C-Y.; LIU, Y-C. Comparisons on the antioxidant properties of fresh, freeze-dried and hot-air-dried tomatoes. **Journal of Food Engineering**, v. 77, n. 3, p. 478-485, 2006.
- CROZIER A.; LEAN, M. E. J.; McDONALD, M. S.; BLACK, C. Quantitative analysis of the flavonoid content of commercial tomatoes, onions, lettuce, and celery. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 45, p. 590-595, 1997.
- DEWANTO, V.; WU, X.; ADOM, K.-K.; LIU, R.-H. Thermal Processing Enhances the Nutritional Value of Tomatoes by Increasing Total Antioxidant Activity. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 50, n. 10, p.3010-3014. 2002.

- ESCARPA, A. & GONZALEZ, M. C. An overview of analytical chemistry of phenolic compounds in foods. **Critical Reviews in Analytical Chemistry**, v. 31, n. 2, p. 57-139, 2001.
- GIOVANELLI, G., L., LAVELLI V., PERI C., PAGLIARINI E., ZANONI B., PETRONE P. The antioxidant activity of tomato. IV. Effects of storage on oxidative and heat damage. **Acta Horticulturae**, v. 542, p.221-223, 2001.
- KIM, D. O.; JEONG, S. W.; LEE, C. Y. Antioxidant capacity of phenolic phytochemicals from various cultivars of plums. **Food Chemistry**, v. 81, p. 321-326, 2003.
- KINSELLA J. E.; FRANKEL E.; GERMAN B.; KANNER J. Possible mechanisms for the protective role of antioxidants in wine and plant foods. **Food Technology**, v. 47, n. 4, p. 85-89, 1993.
- LAVELLI, V. & GIOVANELLI, G. Evaluation of heat and oxidative damage during storage of processed tomato products. II. Study of oxidative damage indices. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, v. 83, p. 966-971, 2003.
- SAHLIN, E.; SAVAGE, G. P.; LISTER, C. E. Investigation of the antioxidante properties of tomatoes after processing. **Journal of Food Composition and Analysis**, v. 17, p. 635-647, 2004.
- SINGLETON, V. L.; ROSSI, J. A. Jr. Colorimetry of total phenolics with phosphomolybdic-phosphotungstic acid reagents. **American Journal of Enology and Viticulture**, v. 16, p. 144-158, 1965.
- STEWART, A. J.; BOZONNET, S.; MULLEN, W.; JENKINS, G.I.; LEAN, M. E. J.; CROZIER, A. Occurrence of flavonoids in tomatoes and tomato-based products. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 48, p. 2663-2669, 2000.
- ZHISHEN, J.; MENGCHENG, T.; JIANMING, W. The determination of flavonoid contents in mulberry and their scavenging effects on superoxide radicals. **Food Chemistry**, v. 64, p. 555-559, 1999.

## **AGRADECIMENTOS**

Os autores agradecem ao CNPq pela concessão da bolsa, à FAPESP pelo apoio financeiro, ao Centro de Ciência e Qualidade de Alimentos do ITAL pelas instalações e recursos disponibilizados e à empresa Predilecta Alimentos Ltda pelo fornecimento das amostras.