

**UNIVERSIDADE FEDERAL DE MINAS GERAIS
INSTITUTO DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS
CAMPUS REGIONAL DE MONTES CLAROS**

TRABALHO DE CONCLUSÃO DE CURSO

ENGENHARIA DE ALIMENTOS

**POTENCIAL ANTIOXIDANTE DE EXTRATO AQUOSO DE COUVE SUBMETIDO
A DIFERENTES PROCESSAMENTOS**

KARINY BEZERRA INÁCIO

KARINY BEZERRA INÁCIO

**POTENCIAL ANTIOXIDANTE DE EXTRATO AQUOSO DE COUVE SUBMETIDO
A DIFERENTES PROCESSAMENTOS**

Trabalho de Conclusão de Curso apresentado ao Instituto de Ciências Agrárias da Universidade Federal de Minas Gerais, como requisito parcial, para a obtenção do título de Bacharel em Engenharia de Alimentos.

Orientador: Alcinei Místico Azevedo

Coorientadoras: Anna Christina de Almeida

Francine Souza Alves da Fonseca

Montes Claros- MG

2018

FOLHA DE APROVAÇÃO

**Kariny Bezerra Inácio. POTENCIAL ANTIOXIDANTE DE EXTRATO AQUOSO DE
COUVE SUBMETIDO A DIFERENTES PROCESSAMENTOS**

Aprovada pela banca examinadora constituída por:

Francine Souza Alves da Fonseca- técnica de laboratório ICA/UFMG

Caroline Liboreiro Paiva Prof ICA/ UFMG

Nermy Ribeiro Valadares -doutoranda ICA/ UFMG

Prof Alcinei Místico Azevedo - Orientador ICA/UFMG

Montes Claros, ____ de _____ de 20 ____.

AGRADECIMENTO

Primeiramente agradeço a Deus pela graça da vida e saúde.

À Universidade Federal de Minas Gerais e todos os docentes que me ajudaram a ter o conhecimento que tenho hoje.

À minha família pelo incentivo e por acreditarem em mim, em especial, minha mãe, pai e avó.

Ao meu orientador Alcinei e a mestre Luana Cristina, pela orientação, apoio, incentivo e confiança.

Às minhas coorientadoras Anna Christina e Francine pelas contribuições em momentos de dúvidas.

RESUMO

Devido características nutricionais, presença de fotoquímicos e a crescente demanda dos consumidores por produtos benéficos à saúde, objetivou-se avaliar o potencial antioxidante de extrato aquoso de couve. As folhas foram submetidas a quatro tratamentos: frescas trituradas em liquidificador (FFT), frescas pulverizadas em nitrogênio líquido (FFP), folhas secas em estufa por 72 h (45°C) e congeladas (FSC) e folhas pulverizadas e congeladas (-20°C) (FPC). Em seguida preparou-se os extratos aquosos na concentração de 0,1 gmL⁻¹. Avaliou-se a atividade antioxidante frente ao radical DPPH, compostos fenólicos totais e flavonóides totais de todos os tratamentos. O delineamento foi inteiramente casualizado e as médias comparadas pelo teste Tukey a 5% de significância. As FSC (78,75% de SRL) e FPC (71,20% de SRL) apresentaram os maiores valores de atividade antioxidante. Diferindo estatisticamente FFT (63,16% de SRL) e FFP (62,04% de SRL) que não diferiram estatisticamente entre si. As FSC, FPC, FFP e FFT apresentaram valores de EC₅₀, respectivamente, 10 e 43,8, 61,77 e 76,15 mg mL⁻¹. As FSC, FPC e FFP não diferiram estatisticamente quanto aos compostos fenólicos apresentando valores médios de 43,53; 42,94; 40,22 mg EAG/g peso seco, respectivamente. Já as FFT apresentaram menor teor de fenólicos, com média de 29,89 mg EAG/g peso seco, mas não se diferiram FFP. As FSC, FPC e FFT não se diferiam estatisticamente quanto aos flavonóides, com valores médios de 14,59; 11,53; 9,22 mg EQ/g peso seco, respectivamente. E as FFP apresentaram o maior teor de flavonóides (26,83 mg EQ/g peso seco). Sendo assim pode-se concluir que o método utilizado é eficiente para extrair compostos com atividade antioxidante, quando submetida a processamentos o extrato aquoso da couve apresenta maior SRL. Assim, a couve é um bom alimento para ser introduzido na alimentação pela suas propriedades.

Palavras-chave: total phenolics, total flavonoids, heat treatment, Brassica oleracea

ABSTRACT

Due to nutritional characteristics, the presence of photochemicals and the growing consumer demand for health products, the objective was to evaluate the antioxidant potential of aqueous extract of cabbage. The leaves were submitted to four treatments: fresh blending (FFT), fresh liquid nitrogen (FFP) sprays, 72 h (72 ° F) and frozen (FSC) and powdered and frozen leaves (-20 ° C) (FPC). The aqueous extracts were then prepared in the concentration of 0.1 gmL⁻¹. The antioxidant activity against DPPH radical, total phenolic compounds and total flavonoids of all treatments were evaluated. The design was completely randomized and the means were compared by the Tukey test at 5% significance. FSC (78.75% of SRL) and FPC (71.20% of SRL) presented the highest values of antioxidant activity. Statistically different FFT (63.16% of SRL) and FFP (62.04% of SRL) did not statistically differ from each other. The FSC, FPC, FFP FFT presented EC₅₀ values, respectively, 10 and 43.8, 61.77 and 76.15 mg mL⁻¹. The FSC, FPC and FFP did not differ statistically regarding the phenolic compounds presenting average values of 43.53; 42.94; 40.22 mg EAG / g dry weight, respectively. The FFT presented lower phenolic content, with a mean of 29.89 mg EAG / g dry weight, but did not differ FFP. FSC, FPC and FFT were not statistically different from flavonoids, with a mean value of 14.59; 11.53; 9.22 mg EQ / g dry weight, respectively. FFP showed the highest flavonoid content (26.83 mg EQ / g dry weight). Thus, it can be concluded that the method used is efficient to extract compounds with antioxidant activity, when submitted to processing the aqueous extract of cabbage presents higher SRL. Thus, cabbage is a good food to be introduced into the feed by its properties.

Keywords: antioxidant, Cabbage, phenolic compounds, flavanoids, aqueous extract , *Brassica oleracea* var. *acephala*

LISTA DE TABELAS

Tabela 1- Atividade antioxidante e EC ₅₀ em extrato aquoso de couve.....	27
Tabela 2- Teor de compostos fenólicos e flavonóides em extrato aquoso de couve.....	29
Tabela 3- Correlação entre atividade antioxidante, flavonóides e compostos fenólicos em extrato aquoso de couve.....	31

SUMÁRIO

1.	INTRODUÇÃO	15
2.	OBJETIVO.....	16
2.1	Objetivo geral.....	16
2.2	Objetivos específicos.....	16
3	REFERENCIAL TEÓRICO	16
3.1	Processamento de hortaliças	16
3.2	Atividade antioxidante e compostos fenólicos.....	18
3.3	Antioxidante natural e sintético	20
3.4	Propriedades antioxidantes da couve	21
4	MATERIAIS E METODOS	23
4.1	Coleta e preparo das amostras	23
4.2	Preparo dos extratos	24
4.3	Análise de atividade antioxidante.....	24
4.4	Determinação de compostos fenólicos totais	25
4.5	Determinação de flavonóides totais	26
4.6	Análise estatística.....	26
5	RESULTADOS E DISCUSSÃO	26
5.1	Atividade antioxidante	27
5.2	Compostos fenólicos e flavonóides.....	29
6	CONSIDERAÇÕES FINAIS	32
7	REFERÊNCIAS	33

1. INTRODUÇÃO

A oxidação é um processo metabólico que leva à produção de energia necessária para as atividades essenciais das células. Contudo, o metabolismo do oxigênio nas células vivas leva à produção de radicais livres (ADEGOKE, 1998; MCCORD, 1994). Essa reação ocorre nos alimentos provocando a perda do valor nutritivo e pode ser prejudicial à saúde. (MARINOVA, YANISHILIEVA, 2003). Para evitar ou minimizar estes danos os antioxidantes são utilizados como aditivos alimentares.

A pesquisa por antioxidantes naturais é uma nova tendência de mercado industrial com vistas substituírem os antioxidantes sintéticos (NISSEN *et al.*, 2001; BERNAL GÓMEZ, MENDONÇA JÚNIOR, MANCINI- FILHO, 2003; REDDY, UROOJ, KUMAR, 2005). Já que estudos comprovaram que a exposição prolongada destes compostos leva ao desenvolvimento de doenças (HIROSE *et al.*, 1981; ROSSING, KAHL, HILDEBRANDT, 1985). Assim, os antioxidantes naturais são adicionados, pois além de inibir a formação de radicais livres também tem potencial de aumentar os efeitos terapêuticos e nutricionais do alimento (GAMÉZ-MEZA *et al.*, 1999).

A couve é um alimento que possuindo alta potencialidade nutritiva, especialmente pelos altos conteúdos de carotenóides, vitaminas C e K, compostos fenólicos e ácidos orgânicos (SIKORA *et al.*, 2008; NULL; FELDMAN, 2011), que conferem propriedades antioxidante e antimicrobiana (AYAZ *et al.*, 2008; KORUS, 2011; SOENGAS *et al.*, 2012; KAULMANN *et al.*, 2014) e algumas propriedades fitoterápicas (AGBAJE; OKPARA, 2013). Ela teve origem no leste do mediterrâneo e utilizada para a alimentação humana há mais de 2000 anos a.C. (BALKAYA; YANMAZ, 2005).

A capacidade antioxidante da couve é devido à presença de compostos que tem a função é a de interceptar os radicais livres gerados pelo metabolismo celular ou por fontes exógenas. Tais compostos como: vitaminas C, compostos fenólicos, os flavonóides e carotenóides. Impedindo o ataque sobre os lipídeos, os aminoácidos das proteínas, as bases do DNA, evitando a formação de lesões e perda da integridade celular (BIANCHI; ANTUNES, 1999). No presente trabalho o enfoque maior foi nos compostos fenólicos e flavonóides.

Os compostos fenólicos, constituintes de um amplo e complexo grupo de fitoquímicos, são produtos secundários do metabolismo vegetal que apresentam em sua estrutura um anel aromático com uma ou mais hidroxilas, o que possibilita atuarem como agentes redutores,

possibilitando a doação de um hidrogênio, exercendo proteção ao organismo contra o “stress” oxidativo (SCALBERT, 2000). Segundo Escalada *et al.* (2011) os compostos fenólicos podem se dividir em flavonóides e não flavonóides. No estudo de Ayaz *et al.* (2008) foram encontrados nove diferentes tipos de ácidos fenólicos presentes na couve: gálico, protocatecuico, p-hidroxibenzóico, vanílico, salicílico, p-cumárico, caféico, ferúlico e sinápico.

Esta hortaliça, mesmo sendo boa fonte de antioxidante, pode apresentar variações desta propriedade nos diferentes estádios de desenvolvimento (MARTINEZ-VILLALUENGA *et al.*, 2010), estágios de maturação (KORUS, 2011a), sistemas de cultivo (RIGUEIRA, BANDEIRA, CHAGAS & MILAGRES, 2016) e após processamentos (SIKORA *et al.*, 2008; GIRGIN & EL, 2015; MURADOR, MERCADANTE & ROSSO, 2016; RIGUEIRA *et al.*, 2016). Além disso, quando o foco é a adição do extrato em alimentos devem-se considerar solventes que não sejam tóxicos para o consumo, por isso a utilização da água. Visto que o tipo de solvente utilizado na extração tem influência sobre o conteúdo de fitoquímicos e atividade antioxidante.

Visto isso, a fim de certificar a utilização da água como solvente e a couve submetida a diferentes processamentos, é proposta a avaliação do potencial antioxidante, fenólicos totais e flavonóides totais do extrato aquoso de couve.

2. OBJETIVO

2.1 Objetivo geral

Avaliar influência de diferentes formas de processamento para ação antioxidante do extrato aquoso de couve.

2.2 Objetivos específicos

Estabelecer método de análise para extração de compostos antioxidantes do extrato aquoso da couve;

Determinar a atividade antioxidante, os compostos fenólicos totais e flavonóides totais no extrato aquoso da couve.

3 REFERENCIAL TEÓRICO

3.1 Processamento de hortaliças

Há um grande crescimento no consumo hortaliças em decorrência dos seus efeitos terapêuticos e valor nutritivo. Esses alimentos contêm diferentes fitoquímicos, onde vários possuem propriedades antioxidantes que podem estar relacionadas com o retardo do envelhecimento e com a prevenção de certas doenças como o câncer, acompanhado de doenças-crônicas-inflamatórias, doenças cardíacas, pulmonares e problemas associados com o envelhecimento (SIQUEIRA *et al.*, 1997; LIMA *et al.*, 2002).

Essas hortaliças podem sofrer perda da qualidade de acordo com o tipo de processamento em que são empregadas, como por exemplo, perda de sabor e aroma, aumento da taxa de perda de vitaminas e redução na vida útil dos produtos. Um dos principais fatores que interferem nessas perdas é a taxa de respiração dos tecidos vegetais. Essa taxa aumenta de acordo com o aumento da temperatura nas hortaliças minimamente processadas. (BEZERRA, 2007)

O sistema enzimático permanece intacto e ativo no caso das folhas inteiras. O produto deteriora-se devido ao processo de senescência natural à medida que as reservas de energia vão sendo consumidas e os produtos metabólicos vão sendo acumulados nos tecidos. Assim, compostos de baixo peso molecular acumulam-se e têm propriedades que não favorecem o produto. Quando o produto passa por algum tipo de trituração, que diminui suas partículas, aumentam as chances de haver problemas devido ao aumento do contato com o oxigênio (BEZERRA, 2007). Ou seja, após a colheita o produto tem que passar rapidamente por algum processo para não perder suas características e aumentar o tempo de vida útil.

As hortaliças podem ser submetidas a alguns processos para retardar a sua deterioração. Os principais métodos de conservação de alimentos pelo uso de: calor, frio, fermentações, açúcar, aditivos, irradiação entre outros (GAVA, 2000)

A elaboração de novos produtos constitui uma boa alternativa para agregar valor, aumentar a vida de prateleira e atender as preferências em relação ao consumidor. Podendo formar produtos que podem ser utilizados como subprodutos na elaboração de outro alimento. A desidratação, por exemplo, proporciona maior conservação das hortaliças com poucas alterações em suas características organolépticas e nutritivas (MOTA, 2005). Mas mesmo após a desidratação ainda ocorrer algumas reações que alteram o conteúdo da hortaliça. Um fator negativo que pode ocorrer com a desidratação é a desnaturação de vitaminas, mas isso irá variar de acordo com o tempo e temperatura que a hortaliça vai ser empregada. (SILVA, 2000). Em geral, a aplicação do calor pode destruir grande parte da flora microbiana e inativar sistemas enzimáticos (GAVA, 2002).

As temperaturas baixas são utilizadas para retardar as reações químicas, a atividade enzimática o crescimento e a atividade dos microrganismos. Quanto mais baixa for a temperatura mais reduzida será a ação química, enzimática e o crescimento microbiano. O congelamento, por exemplo, inibe o crescimento microbiano e retarda praticamente todo o processo metabólico. No entanto mesmo quando um tecido animal ou vegetal é congelado lentamente, mesmo a -20°C ou temperaturas inferiores, existirão locais com concentração de solutos não congelados (GAVA, 2002).

3.2 Atividade antioxidante e compostos fenólicos

Oxidação é a conversão de uma substância química em um derivado com menor número de elétrons. Portanto, é a perda de um ou mais elétrons para outra substância e o procedimento inverso pode ser considerado como redução. Quando ocorre essa perda de elétrons formam-se os radicais livres (LARSON, 1997). Estas moléculas de radicais livres reagem com DNA, RNA, proteínas, lipídeos, ácidos nucleicos e outras substâncias oxidáveis, promovendo danos que podem contribuir para o envelhecimento e a instalação de doenças degenerativas como cardiopatias, aterosclerose e problemas pulmonares, aterosclerose, artrite reumática e doenças associadas à alteração no DNA como câncer entre outras. O estresse oxidativo é o desequilíbrio entre moléculas oxidantes e antioxidantes. Isso resulta na indução de danos celulares pelos radicais livres (HALLIWEL, 1992).

A formação de radicais livres *in vivo* ocorre via ação catalítica de enzimas, durante os processos de transferência de elétrons que ocorrem no metabolismo celular (Respiração aeróbica, inflamações, peroxissomos, enzimas do citocromo P450) e pela exposição a fatores exógenos (cigarro, ozônio, radiações gama e ultravioleta, medicamentos e dietas). (CERUTTI, 1994).

Para evitar o desenvolvimento da reação oxidativa, os antioxidantes são empregados como aditivos alimentares. Na indústria alimentícia, muitos antioxidantes sintéticos são usados, mas em estudos foi evidenciado que o uso prolongados desses podem causar problemas como alteração na função hepática, câncer no fígado, pâncreas e glândulas entre outros. (HIROSE *et al.*, 1981) Visto isso o uso de antioxidantes naturais vem sendo estudados para substituírem os artificiais, como também pelas evidências de que estes compostos podem atuar em benefício da saúde (BUB *et al.*, 2003).

Para ser um bom antioxidante é necessária presença de substituintes doadores de elétrons ou de hidrogênio ao radical, em função de seu potencial de redução; capacidade de deslocamento do radical formado em sua estrutura; capacidade de quelar metais de transição implicados no processo oxidativo; e acesso ao local de ação, dependendo de sua hidrofília ou lipofília e de seu coeficiente de partição. (MANACH, 2004). Segundo Lehninger (2000) na seleção de antioxidantes, são desejáveis as seguintes características: eficácia em baixas concentrações (0,001 a 0,01%); ausência de efeitos indesejáveis na cor, no odor, no sabor; compatibilidade com o alimento e fácil aplicação; estabilidade nas condições de processo e armazenamento e compostos não podem ser tóxicos.

Existem vários métodos para determinar a capacidade antioxidante. Estes métodos podem ser baseados na captura do radical peroxila (ORAC, TRAP), poder de redução do metal (FRAP; CUPRAC), captura do radical hidroxila (método de desoxirribose), captura do radical orgânico (ABTS, DPPH), quantificação de produtos formados durante a peroxidação de lipídios (TBARS, oxidação do LDL, co-oxidação do -caroteno) (FRANKEL e MEYER, 2000; SÁNCHEZ-MORENO, 2002; ARUOMA, 2003), etc.

O princípio do método de sequestro de radicais livres está baseado no descoramento de uma solução composta por radicais estáveis DPPH (cor violeta) quando há adição de substâncias que podem ceder um átomo de hidrogênio. Trata-se de um método rápido que não envolve condições muito drásticas de temperatura e oxigenação (HUANG; OU; PRIOR, 2005).

Um tipo de antioxidante existente são os compostos fenólicos. São antioxidantes primários que inibem a cadeia de iniciação ou interrompem a cadeia de propagação das reações oxidativas promovidas pelos radicais livres a partir da doação de átomos de hidrogênio a estas moléculas, interrompendo a reação em cadeia. (SIMIC, 1994). Os radicais livres tem maior atração com de hidrogênio ativo do antioxidante do que com os hidrogênios alílicos das moléculas insaturadas. Assim formam-se espécies inativas para a reação em cadeia e um radical inerte (que não possui capacidade de iniciar ou propagar as reações oxidativas) procedente do antioxidante. (FRANKEL, 2000)

Os efeitos benéficos dos compostos fenólicos para os seres humanos são atribuídos às suas propriedades antioxidantes (RICE-EVANS, 1997), ação estrogénica (MIKSICEK, 1993) e a um largo espectro de atividades antimicrobianas e farmacológicas (antiinflamatórias, antialérgicas e vasodilatadoras) (DIXON, 1999)

Os compostos fenólicos vêm sendo relacionada com a sua atividade antiinflamatória, com a atividade que impede a aglomeração das plaquetas sanguíneas e a ação de radicais

livres no organismo. Protegendo moléculas como o DNA contra alguns processos carcinogênicos que podem ser formados com os radicais livres. Esta classe de compostos apresenta uma grande diversidade e divide-se em flavonóides e não-flavonóides. (HARBORNE; WILLIAMS, 2000; SÁNCHEZ-MORENO, 2002). Existem cerca de cinco mil fenóis, dentre eles, destacam-se os flavonóides, ácidos fenólicos, fenóis simples, cumarinas, taninos, ligninas e tocoferóis (SHAHIDI, 1995).

Os flavonóides estão amplamente distribuídos nas frutas e nos vegetais. Sua classificação basea-se no estado de oxidação da cadeia heterocíclica do pirano (CHEYNIER, 2005). Os flavonóides utilizados na dieta humana são subdivididos em seis classes: flavanonas, flavonóis, flavonas, flavanóis, isoflavonas e antocianidinas (HOENSCH, 2015; JOHNSTON, 2015). Os flavonóides atuam como antioxidantes na inativação dos radicais livres, em ambos os compartimentos celulares lipofílico e hidrofílico. (HARTMAN, SHANKEL, 1990).

A estrutura química dos flavonóides consiste em dois anéis aromáticos, denominados anel A e B, unidos por três carbonos que formam um anel heterocíclico, denominado anel C. Variações em substituição do anel C padrão resultam em importantes classes de flavonóides. Substituições dos anéis A e B originam diferentes compostos dentro de cada classe de flavonóides. Estas substituições podem incluir oxigenação, alquilação, glicosilação, acilação e sulfatação. (HOLLMAN, 1999). Diversas atividades biológicas são atribuídas a essa classe de polifenóis, tais como atividade antitumoral, antioxidante, antiviral e anti-inflamatória, dentre outras. (SIMÕES, 2004; CAZAROLLI, 2008; MIDDLETON, 2000)

3.3 Antioxidante natural e sintético

Segundo a ANVISA, antioxidante é a substância que retarda o aparecimento de alteração oxidativa no alimento. Do ponto de vista químico, os antioxidantes são compostos aromáticos que contêm, no mínimo, uma hidroxila. Os antioxidantes são responsáveis por minimizar a rancificação, retardar a formação de oxidação tóxica nos produtos, manter a qualidade nutricional e aumentar a vida útil (MARIOD *et al.*, 2009). A Resolução nº 04 de 24/11/88 relaciona um total de 17 aditivos permitidos classificados como antioxidantes possíveis de serem adicionados em aproximadamente 40 a 50 alimentos (MINISTÉRIO DA SAÚDE, 1988)

Na indústria alimentícia, muitos antioxidantes sintéticos são adicionados nos alimentos os mais utilizados são: butil-hidróxi-tolueno (BHT), o butilhidróxi-anisol (BHA) e o terc-butil-hidroquinona (TBHQ). Porém, evidenciaram que a exposição aguda e prolongada destes compostos leva ao desenvolvimento de doenças (HIROSE *et al.*, 1981; ROSSING, KAHL, HILDEBRANDT, 1985).

Há vários estudos que buscam a utilização de antioxidantes naturais que possam substituir os sintéticos total ou parcialmente. Assim, maior atenção tem sido dada para aplicação de antioxidantes naturais, por apresentarem também efeitos terapêuticos e nutricionais (GAMÉZ-MEZA *et al.*, 1999). Os antioxidantes naturais são encontrados principalmente em plantas na forma de compostos fenólicos (flavonóides, ácidos e álcoois, estilbenos, tocoferóis, tocotrienóis), ácido ascórbico e carotenóides (ALI *et al.*, 2009; MARIOD *et al.*, 2009).

3.4 Propriedades antioxidantes da couve

A espécie *Brassica oleraceae* possui diversas variedades provindas da mostarda. Entre elas estão a couve, o brócolis, a couve-flor, o repolho e couve de bruxelas (Souza-Silva & Ilharco 1995).

Segundo Lorenz & Maynard (1988), comparativamente a outras hortaliças folhosas, a couve manteiga se destaca por seu maior conteúdo de proteínas, carboidratos, fibras, cálcio, ferro, vitamina A, niacina e vitamina C. É ainda uma excelente fonte de carotenóides apresentando, entre as hortaliças, maiores concentrações de luteína e beta caroteno. No entanto, o conteúdo inicial de nutrientes em diferentes tipos de hortaliças pode variar em virtude do tempo, temperatura, grau de maturação, variedade, clima, sistema de cultivo, processamento e tratamento térmico (BAENAS; MORENO; GARCIA-VIGUERA, 2012; BERNHARDT; SCHLICH, 2006; BIERI, 2002).

O consumo desses alimentos vem aumentando devido ao seu valor nutritivo e efeitos terapêuticos. Esses alimentos contêm diferentes fitoquímicos, com propriedades antioxidantes que podem estar relacionadas com a prevenção diversas doenças e retardamento do envelhecimento. (SIQUEIRA *et al.*, 1997; LIMA *et al.*, 2002). De acordo com Kaulmann *et al.* (2014) a capacidade antioxidante das Brassicas está relacionada com a composição de flavonóides, antocianinas, luteínas, vitamina C e ácidos neoclorogênicos.

Rigueira *et al* (2016) avaliou a influência de sistemas de cultivo (convencional e orgânico) e de métodos de preparo (cru, calor seco e calor úmido) na atividade antioxidante e no teor de fenólicos de folhas e talos da couve. O sistema de cultivo orgânico e o preparo em calor seco (refogada) foram os tratamentos que obtiveram os maiores percentuais de antioxidantes e teores de compostos fenólicos, principalmente, em folhas de couve. Esse resultado pode estar relacionado à melhor eficiência na extração dos fenólicos após a cocção (ISMAIL; MARJAN; FOONG, 2004). As amostras que foram analisadas por CCD revelaram que todos os extratos de folhas e talos de couve apresentaram compostos fenólicos bem como componentes com ação antioxidante, mas nem todos com correlação, pois quando associado a um tipo processamento térmico, pode haver derivatização dos fenólicos, os quais nem todos os subprodutos podem apresentar atividade antioxidante. Constata-se que a utilização de sistema de cultivo orgânico e cocção em calor seco podem ser eficientes para preservação e/ou aumento do teor de compostos fenólicos e da atividade antioxidante em talos e, principalmente, em folhas de couve. Constata-se que a capacidade antioxidante das Brassicas pode aumentar com o cozimento a vapor (calor seco) devido à liberação dos compostos pela matriz celular, entretanto pode diminuir com a fervura (calor úmido) pelo fato que os compostos antioxidantes, como a vitamina C e os polifenóis, são hidrossolúveis, então são perdidos por lixiviação. (Girgin e El, 2015)

Existem vários métodos de análise para a determinação da capacidade antioxidante, entre eles vários autores determinaram essa atividade nos vegetais *Brassica oleracea* pelo método DPPH (2,2-difenil-1-picrihidrazil) que é baseado na capturar do radical DPPH. O estudo do Soengas *et al* (2012) que avaliou a atividade antioxidante de diferentes cultivos de *Brassica* e tempo de semeadura. Nos brotos e em folhas colhidas dois meses após a semeadura a couve-flor apresentou a maior atividade antioxidante. As amostras colhidas três meses após a semeadura apresentaram a maior atividade antioxidante. Dentre as culturas a de couve possuía a maior atividade antioxidante nesta fase da planta, no qual a atividade antioxidante do brócolis foi 3,72 μ m, da couve 20,7 μ m, da couve-flor 3,16 μ m e do repolho 4,54 μ m. Na fase adulta a couve também apresentou maior atividade antioxidante. Soengas *et al* (2012) verificou que o teor e a composição fenólicos variaram, dependendo da cultura em estudo e da fase da planta.

Melo *et al* (2006) avaliou a capacidade antioxidante de extratos metanólicos foram testados quanto a atividade antioxidante em sistema modelo β -caroteno/ácido linoléico e a habilidade de seqüestrar o radical estável (DPPH). Os extratos metanólicos da couve folha, couve-flor, repolho verde foram os mais eficazes em sequestrar o radical livre, sendo 90,49%,

87,35% e 51,54% de inibição e para total de fenólicos foram 74,77 μ g/0,1 mL, 81,68 μ g/0,1 mL, 61,27 μ g/0,1 mL respectivamente. No sistema modelo β -caroteno/ácido linoléico, o extrato couve-folha exibiram a mais elevada atividade antioxidante (superior a 70%). As hortaliças testadas podem ser vistas como fontes dietéticas de antioxidantes que podem trazer benefícios à saúde, portanto o seu consumo deve ser estimulado.

As diferentes culturas de brassicas podem ajudar com controle e prevenção de diversas doenças. Os carotenoides tem o efeito antioxidante e anticancerígena (útero, próstata, seio, cólon, reto e pulmão); os flavonóides tem atividades antioxidante, reduzem do risco de câncer e de doença cardiovascular (ANJO, 2004); o selênio que oferece proteção contra doenças crônicas associadas ao envelhecimento, como aterosclerose (doenças das artérias coronarianas, cerebrovascular e vascular periférica), câncer, artrite, cirrose e efisema (HENDLER, 1994); os glucosinolatos que em o efeito de detoxificação do fígado, atividade anticancerígena e antimutagênica; a catequina que possui atividade antioxidante, reduz do risco de doença cardiovascular, os ácidos fenólicos e antocianinas que possuem atividade antioxidante no grupo dos carotenóides tem o betacaroteno que diminui o risco de câncer e de doenças cardiovasculares e atua também na saúde da visão e a luteína que protege a retina contra degeneração macular e retinal entre outros. (ANJO, 2004).

Deste modo, nota-se a ampla utilização, as potencialidades desses vegetais e a importância de estudar seus benefícios, principalmente a couve, e seus produtos no setor alimentício. Com isso é de suma importância avaliar o potencial e benéfico desse alimento e quem estes sejam veiculados à população para melhorar os hábitos alimentares.

Portanto, o intuito deste estudo foi avaliar o potencial antioxidante, bem como quantificar os teores de compostos fenólicos e flavonóides em extrato aquoso de couve.

4 MATERIAIS E METODOS

4.1 Coleta e preparo das amostras

As folhas de couve (*Brassica oleracea* var. *acephala*) cultivar manteiga foram colhidas na horta experimental do Instituto de Ciências Agrárias (ICA) da UFMG em Montes Claros, com altitude de 630 m, latitude de 16°45'S e longitude de 43°51'W e levadas ao Laboratório de Plantas Medicinais do ICA. A seleção das amostras foi realizada de maneira a

selecionar folhas comercializáveis: comprimento maior que 15 cm, sem sinais de senescência e danos ocasionados por pragas e doenças. (Azevedo *et al.* 2014).

As folhas de couve selecionadas foram higienizadas seguindo as etapas: lavagem com água corrente, sanitização em solução de 200 ppm de hipoclorito de sódio por imersão durante 15 minutos e enxague com água corrente segundo Costa *et al.*, (2012).

As folhas de couve higienizadas foram submetidas a quatro tratamentos. No primeiro, as folhas foram picadas manualmente, em seguida trituradas em liquidificador e foram imediatamente analisadas (FFT). No segundo tratamento as folhas frescas foram picadas manualmente e pulverizadas em nitrogênio líquido em almofariz (Ayaz *et al.*, 2008) e logo após analisadas. (FFP)

Para o terceiro tratamento as folhas inteiras foram submetidas à secagem. A secagem foi realizada em estufa de circulação de ar a 45°C por 72 horas, em seguida as folhas foram trituradas em almofariz e armazenadas sob congelamento (-20°C) por até 60 dias para as análises de atividade antioxidante, da concentração dos compostos fenólicos e flavonóides. (FSC)

No seguinte tratamento, as folhas foram picadas manualmente, pulverizadas em nitrogênio líquido e armazenadas em tubos Falcon sob congelamento (-20°C) por até 60 dias. (FPC)

4.2 Preparo dos extratos

Para o preparo dos extratos aquosos de couve, folhas (2,0 g) foram transferidas para erlenmeyer (50 mL) e adicionado água destilada (20 mL). O recipiente foi recoberto com papel alumínio e para cada tratamento foram preparadas quatro repetições. O sistema foi mantido em agitação orbital (GO shaker, SK-180-Pro) a 320 rpm (rotação por minuto) por uma hora e posteriormente deixado em banho ultrassônico (Sanders, SoniClean 6) por 25 minutos a 25°C. O extrato foi filtrado e o sobrenadante recolhido em frasco âmbar de 50mL, em seguida armazenou-se sob refrigeração (4°C) até o momento da análise (adaptado de Vale *et al.*, 2015).

4.3 Análise de atividade antioxidante

Pra análise de atividade antioxidante foi utilizado o radical livre DPPH (2,2-difenil-1-picrihidrazil) de acordo com a metodologia de Brand-Williams, CuveliereBerset (1995) com

adaptações. Para a reação foi adicionado extrato aquoso de couve (0,2 mL) a tubos de vidro contendo solução DHHP (3,0 mL) DPPH 0,05 mM diluído em etanol. Os tubos foram agitados no vórtex por 30 segundos em seguida deixados em ambiente escuro por 30 minutos. A leitura da absorbância foi realizada em espectrofotômetro (Micronal, B582) a 517 nm. A mistura de etanol (3,0 mL) e água destilada (0,2 mL) foi utilizada como branco.

A porcentagem de sequestro de radicais livres (SRL) foi calculada usando a seguinte equação:

$$SRL(\%) = \left(\frac{A_{controle} - A_{amostra}}{A_{controle}} \right) \times 100$$

(Teixeira *et al.*, 2013)

Onde:

Acontrole se refere à absorbância da reação controle (3,0 mL de solução de DPPH e 0,2 mL de água destilada)

Aamostra a absorbância da reação entre as amostras de extratos de couve e DPPH.

Foram determinados os valores de EC₅₀, ou seja, a concentração mínima necessária para o extrato de couve reduzir em 50% o radical DPPH inicial da reação. Para a construção da curva foram selecionadas cinco concentrações de cada tratamento, sendo para folhas secas de 1,5625 a 25 g mL⁻¹ e para os outros três tratamentos de 6,25 a 100 g mL⁻¹.

Em seguida, para cada concentração testada, construiu-se a cinética de reação graficamente e, desses gráficos, a porcentagem de DPPH consumido foi determinada como previamente descrito. Entretanto, se faz necessário esclarecer que, no presente trabalho, da representação gráfica, obteve-se a equação, do tipo $y = ax + b$, a qual serviu como base para o cálculo da EC₅₀ por meio da equação de 1º grau. Considerando-se o valor de "y" = 50, tem-se x igual quantidade de substância antioxidante necessária para reduzir em 50% a concentração inicial de DPPH (Brand-Williams *et al.*, 1995; Sandoval *et al.*, 2002).

4.4 Determinação de compostos fenólicos totais

Para a determinação de compostos fenólicos seguiu-se a metodologia descrita por Singleton, Orthofer e Lamuela-Raventós (1999). Em tubos de ensaio foram adicionados 0,5 mL dos extratos diluídos (1:25), em seguida adicionou-se 0,5 mL de solução de carbonato de sódio (Na₂CO₃) a 7,5% (m/v) diluído em água e 0,5 mL do agente redutor Folin Ciocalteau a 20% (v/v) diluído em água, após isso os tubos foram tampados, agitados em vórtex por um minuto e deixados em repouso por 30 min em ambiente escuro. A leitura da absorbância foi

realizada a 765 nm. Para cada tratamento foram feitas quatro repetições em quadruplicata. Os resultados foram expressos através da curva de calibração de ácido gálico (Sigma-Aldrich) nas concentrações de 0, 0,005, 0,01, 0,02, 0,04 mgmL⁻¹ ($R^2=0,99$) diluídas em água. Dessa forma, os resultados foram expressos em mg EAG/g peso seco. EAG: equivalente em ácido gálico.

4.5 Determinação de flavonóides totais

A determinação de flavonóides totais foi realizada conforme a metodologia descrita por Dewanto, Wu, Adome Liu (2002). Em tubos de ensaio foram adicionados 250 µL do extrato ou padrão de catequina e quercetina, 1250 µL de água destilada e 75 µL de solução de nitrito de sódio (NaNO₂) a 5% (m/v) diluído em água, em seguida o sistema foi mantido em repouso para reação por seis minutos, após esse tempo adicionou-se 150 µL de solução de cloreto de alumínio (AlCl₃) a 10% (m/v) diluído em água e permaneceu em repouso por cinco minutos. Em seguida foram adicionados 500 µL de solução de hidróxido de sódio (NaOH) 1M e completou-se o volume até 2,5 mL com água destilada. Na sequência os tubos foram agitados em vórtex e foi feita a leitura da absorbância a 510 nm em espectrofotômetro. Para cada tratamento foram feitas quatro repetições em quadruplicata.

Para expressão dos resultados construiu-se curvas de calibração de catequina (Greenselect Phytosome, 88,88% de pureza) nas concentrações de 100, 200, 300, 400 e 500 µg/mL e de quercetina (Sigma-Aldrich) nas concentrações de 50, 100, 200, 300 e 400 µg/mL ($R^2=0,99$). Os resultados foram expressos em mg EC/g peso seco e mg EQ/g peso seco. Utilizou-se a água destilada como solvente para as soluções de nitrito de sódio, cloreto de alumínio, hidróxido de sódio e dos padrões catequina e quercetina.

4.6 Análise estatística

O delineamento utilizado para análise dos dados foi inteiramente casualizado com quatro repetições e os dados foram analisados pelo método de análise de variância e as médias comparadas pelo teste de Tukey ao nível de significância de 5% utilizando o *software* estatístico R e o pacote ExpDes.pt.

5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

5.1 Atividade antioxidante

Pode-se observar, na Tabela 1, que o extrato das FSC (folhas secas congeladas) apresentaram maior atividade antioxidante (78,75 %), mas não se diferiram estatisticamente das FPC (folhas pulverizadas e congeladas) que foi 71,20% de sequestro de radical livre. As FFP (folhas frescas pulverizadas) (63,16%) e FFT (folhas frescas trituradas) (62,04 %) diferiram estatisticamente dos dois primeiros tratamentos, mas não diferiram entre si.

Tabela 1-Atividade antioxidante e EC₅₀ em extrato aquoso de couve.

Tratamentos	Atividade antioxidante (%)	EC ₅₀ (µg/mL)
FSC	78,75 ± 4,79 a	10,00
FPC	71,20 ± 2,06 a	43,80
FFP	63,16 ± 5,12 b	61,77
FFT	62,04 ± 0,91 b	76,15

Letras iguais nas colunas não se diferem estatisticamente pelo teste de Tukey a 5% de significância.

Fonte: Do autor (2018).

Pode-se observar que houve um aumento da atividade antioxidante no tratamento de FSC e FPC em relação às couves frescas. O tratamento térmico em hortaliças podem alterar de forma positiva ou negativa a capacidade dos nutrientes, isso irá variar de acordo com seu processamento e temperatura empregada. As principais mudanças que podem ocorrer são: aumento do teor de compostos naturalmente presentes (ruptura pode favorecer a liberação de antioxidantes ou compostos podem formar subprodutos e perder sua capacidade antioxidante), tais como carotenóides, perdas de vitaminas e de compostos antioxidantes, inativação de enzimas oxidativas e desnaturação do complexo carotenóide, proteína existente nas células vegetais (CAMPOS *et al.*, 2008). Uma das reações que podem favorecer a formação de novos compostos é a de Maillard, que têm ação antioxidante, pois radicais livres bastante reativos são formados no estágio inicial da reação, principalmente ao utilizar tratamento térmico de baixa intensidade e duração (NICOLI; ANESE; PARPINEL, 1999).

No presente estudo o aumento pode ter sido causado pela secagem favorecer a concentração dos compostos antioxidantes devido à perda de água durante o processamento em relação aos vegetais frescos.

Outros trabalhos também verificaram aumento da atividade antioxidante em função da aplicação do calor seco. Como os dados de Rigueira *et al.* (2016) que obtiveram 72,5% de inibição com o extrato metanólico de couve. Obtendo-se resultados semelhantes ao presente trabalho. Mas estes resultados são inferiores aos encontrados por Melo, Maciel, Lima e Santana (2009), onde a couve cozida a vapor, que com 30 minutos de reação entre o extrato etanólico de couve e o radical DPPH, encontraram valores de 85% a 90%.

O tratamento de FSC (78,75%) não diferiu estatisticamente do tratamento de FPC (71,20 %) que apresentou elevada porcentagem de inibição de radicais livres. Não foram encontrados trabalhos que avaliassem a atividade antioxidante de couve congelada, mas estudo feito por Saggin (2018) evidenciou o efeito do congelamento em algumas hortaliças e evidenciou que as brassicas aumentaram sua atividade antioxidante após o congelamento. Sendo assim um fator que favoreceu a atividade antioxidante, assim como no presente trabalho.

Quanto à atividade antioxidante das FFT e FFP não houve diferença estatística (Tabela 1). Isso demonstra que o fato das folhas trituradas apresentarem tamanho maior das partículas que as folhas pulverizadas, bem como a rápida inibição da atividade enzimática pela baixa temperatura do nitrogênio não foram suficientes para influenciar na capacidade de sequestro de DPPH.

A capacidade de sequestro de DPPH dos extratos aquosos de FFT e FFP foram três vezes maior do que o encontrado por Melo *et al.*, (2014) em seu extrato etanólico de couve. Entretanto, as porcentagens de SRL das folhas frescas estão abaixo da encontrada por Melo *et al.* (2006) em folhas de couve crua que apresentou valor de 90,49% SRL com seu extrato metanólico. O resultado deste ensaio corroboram com Rigueira *et al.* (2016) os quais verificaram em folhas couve manteiga não processadas valores de 68,6% com o extrato metanólico.

O extrato aquoso FFT e FFP deste estudo, segundo classificação de Melo *et al.* (2006), demonstram ter moderada capacidade de sequestro do DPPH (60 a 70%). O extrato aquoso das FSC e FPC apresentam elevada ação oxidante (>70%). Nenhum tratamento estudando nesse trabalho mostrou o extrato aquoso de couve como sendo um vegetal com baixa capacidade oxidante (<60%).

A partir dos valores de absorvância das diferentes concentrações dos extratos em reação com o DPPH foram feitos os cálculos da EC₅₀ para os tratamentos (Tabela 1), sendo que quanto menor a EC₅₀ maior é a atividade antioxidante, pois é a este valor equivale à quantidade de substância antioxidante necessária para reduzir em 50% a concentração inicial

de DPPH. O presente trabalho apresentou menor rendimento que os encontrados por Jaiswal *et al.* (2012) para brócolis e repolho, que variaram de 0,71 a 1,41 mgmL⁻¹ dependendo do solvente e menor que folhas de couve-flor com valor de 2,27 mg·mL⁻¹ (BHANDARI, KWAK, 2015). É possível que isso se deva não só à diferenças entre as Brassicas estudadas, como também às inúmeras variáveis ambientais, além dos métodos utilizados para o preparo dos extratos.

Na literatura não foi encontrado trabalhos que utilizassem a agitação orbital seguida do banho ultrassônico a 25°C para extração de compostos com atividade antioxidante. Pode-se notar que a metodologia utilizada pra preparado do extrato aquoso de couve foi eficiente para obter um produto com boa atividade antioxidante. Sendo esta uma boa alternativa.

5.2 Compostos fenólicos e flavonóides

As FSC, FPC e FFP não diferiram estatisticamente quanto aos compostos fenólicos (Tabela 2). Já as FFT apresentaram menor teor de fenólicos, mas não diferiram das FFP (p>0,05).

Tabela 2- Teor de compostos fenólicos totais e flavonóides totais em extrato aquoso de couve.

Tratamentos	Compostos fenólicos totais	Flavonóides totais	
	(mgEAG/g peso seco)	mgEC/g peso seco	mgEQ/g peso seco
FSC	43,53 ± 3,87 a	26,00 ± 2,70b	14,59 ± 1,61 b
FPC	42,94 ± 9,11 a	23,76 ± 2,06b	11,53 ± 1,24 b
FFP	40,22 ± 3,76 ab	49,27 ± 8,27a	26,83 ± 4,96 a
FFT	29,89 ± 2,73 b	19,91 ± 0,82b	9,22 ± 0,49 b

Letras iguais nas colunas não se diferem estatisticamente pelo teste de Tukey a 5% de significância.

EC: equivalente catequina; EQ: equivalente quercetina. EAG: equivalente a ácido gálico.

Fonte: Do autor (2018).

Os resultados obtidos estão acima do encontrado por Melo *et al.* (2014) que estudaram o extrato etanólico de couve crua que obtiveram um valor de 5,01 mg GAE/g extrato seco. Acima dos valores encontrados por Jaiswa *et al.* (2012) que obteve resultados de um extrato metanólico onde o conteúdo fenólico foi 23,6, 20,4 e 18,7 mg GAE/g, extrato de brócolis,

Couves de Bruxelas e repolho branco, respectivamente, acima dos encontrados por Oliveira, Ramos, Brandão & Silva (2015) para a couve Galega 13,18 mg EAG/g peso seco e acima do encontrado por Hagen, Borge, Solhaug, Bengtsson (2009) pra couve Curly armazenada de 0 a 6 semanas sob refrigeração 16,67 a 17,50 mg EAG/g peso seco. Isto pode ser justificado pelo fato de que o teor de fenólicos totais variam em função do cultivar, parte do alimento, região geográfica de plantio, variação à exposição solar, método de cultivo e fertilização aplicados, componente ativo do extrato, entre outros (MELO, *et al.* 2014).

Apesar de não ter tido uma diferença significativa do extrato aquoso de FSC (43,53mgEAG/g peso seco) com o de FCP (42,94 mgEAG/g peso seco) e FFP (40,22 mgEAG/g peso seco) ele apresentou maior quantidade de fenólicos totais.

Essa relatividade em relação ao tratamento térmico pode ser explicada pelo fato de que o calor pode melhorar a eficiência na extração dos fenólicos (ISMAIL; MARJAN; FOONG, 2004). Em contra partida quando associado ao tipo processamento térmico, pode haver o rompimento das ligações dos fenólicos, onde são formados moléculas sem atividade antioxidante (RIGUEIRA, 2016).

O congelamento das folhas não interferiu estatisticamente dos demais tratamentos, exceto das folhas trituradas, mas obteve o segundo maior valor em relação aos teores de fenólicos totais. Estudo do Alanís-Garza (2015) confirma esse fator. Ele avaliou o efeito do congelamento a -20°C do brócolis e observou que não houve alteração no teor de fenólicos totais. Assim, o congelamento pode ser uma boa alternativa para o tratamento da couve, pois o congelamento aumenta o tempo de vida de prateleira da hortaliça e mantém suas características nutricionais se feita de forma correta, pois com o congelamento lento há rompimento da parede celular com a formação de cristais de gelo, fator que pode fazer com que o composto perca sua propriedade antioxidante.

Dois tratamentos as folhas foram previamente submetidas à pulverização em nitrogênio líquido, que foi o de FFP e FCP. Nestes casos, pode ter ocorrido a inibição de enzimas da couve. Isso pode ter interferência no metabolismo fenólico, pois há a ruptura da membrana celular, o que poderia elevar a extração dos compostos. Essa relação pode justificar seus teores próximos, resultando em maior acessibilidade dos compostos ao solvente de extração, pois os compostos fenólicos são hidrossolúveis.

Em relação à quantidade de flavonóides totais os resultados estatísticos foram semelhantes aos de fenólicos totais, sendo assim, não se diferiam estatisticamente em relação a FSC, FCP e FFP (Tabela 2). As FFP em nitrogênio líquido forneceram extratos com maior teor de flavonóides (26,83 mg EQ/g peso seco e 49,27 mg EC/g peso seco). Estas são

caracterizadas por apresentarem menor tamanho de partícula e rápida inibição enzimática, fator que pode ter influenciado também o maior teor de fenólicos totais, visto que os flavonóides pertencem a este grupo. Em relação ao extrato de folhas secas e congeladas, pode ser afirmado que a aplicação do calor e o congelamento não apresentam um aumento significativo na extração de flavonóides. O extrato das folhas trituradas utilizando o liquidificador apresentou-se como a técnica menos eficiente para a extração de ambos os compostos.

Foi analisada a correlação entre as análises feitas para assim saber qual a interferência desse composto na atividade antioxidante da couve. O maior coeficiente de correlação foi obtido para interação teor de fenólicos com atividade antioxidante ($r = 0,7372$) apresentando na Tabela 3, a qual descreve uma correlação positiva moderada ($0,5 < r < 0,8$), de acordo com os conceitos do coeficiente de correlação de Pearson. Isso se deve ao fato dos fenólicos serem um grupo muito grande entre os antioxidantes. Já as interações fenólicos totais *versus* flavonóides totais ($r = 0,3438$) apresentam uma correlação positiva fraca ($0,3 < r < 0,5$) e flavonóides totais *versus* capacidade antioxidante ($r = -0,2183$) apresentaram-se uma correlação negativa desprezível ($0 < r < 0,3$).

Tabela 3- Correlação entre atividade antioxidante, flavonóides totais e compostos fenólicos totais em extrato aquoso de couve.

	Coefficiente de correlação de Pearson	p-valor
Antioxidante*fenólicos totais	0,7372	0,2627
Antioxidante*flavonóides totais	-0,2183	0,7817
Fenólicos totais * flavonóides totais	0,3438	0,6561

Resultado não significativo ($p > 0,05$) indica normalidade.

Fonte: Do autor (2018).

A correlação dos antioxidantes *versus* fenólicos foi moderada, indicando assim uma quantidade grande de fenólicos com capacidade antioxidante presente no extrato de couve aquoso. Além disso, os fenólicos não são os únicos componentes que influenciam na atividade antioxidante. Na couve também estão presente componentes com essa propriedade como carotenóides, vitaminas C e K e ácidos orgânicos (SIKORA *et al.*, 2008; NULL; FELDMAN, 2011). A presença desses outros compostos pode ser evidenciada com o fato de que FFP apresentaram menor poder antioxidante que as FSC e FCP, mas não diferiram desses tratamentos em relação aos compostos fenólicos. Já a correlação dos Fenólicos *versus* flavonóides foi fraca demonstrando que não houve um aumento linear do teor de flavonóides

totais em função do teor de fenólicos totais. Isso pode indicar que o extrator utilizado pode não ter sido eficaz para extração dos flavonóides totais.

As FSC, FCP e FFT não diferiam estatisticamente quanto ao teor de flavonóides totais e de compostos fenólicos totais (Tabela 2), porém a aplicação do calor e a baixa temperatura às folhas de couve fornecem extratos com altos teores de fenólicos e baixa quantidade de flavonóides. O que pode indicar um extrato aquoso com maior teor de ácidos fenólicos do que flavonóides.

A técnica de identificação utilizada pode interferir no resultado, pois nem todos os compostos são possíveis de serem identificados por formarem complexos com outras substâncias como lipídios, proteínas fibras. Com isso, o processamento da couve, as técnicas de análise utilizadas neste estudo podem ter interferido nos resultados do teor de fenólicos totais, flavonóides e atividade antioxidante. (RIGUEIRA, 2016)

As divergências dos resultados encontrados no presente trabalho com outros autores pode variar não só entre a diferenças entre as das variações da espécie estudada, como também às inúmeras variáveis ambientais, além dos métodos e solvente utilizado para o preparo dos extratos.

A utilização de água como solvente e a concentração de $0,1 \text{ g mL}^{-1}$ em folhas de couve obteve-se resultados satisfatórios de atividade antioxidante, compostos fenólicos e flavonóides, pois todas as amostras apresentam um bom teor desses compostos.

É importante destacar que o efeito antioxidante exercido por extratos vegetais são de inestimável importância, contribuindo de forma significativa na proteção e manutenção da saúde do homem.

6 CONSIDERAÇÕES FINAIS

A aplicação do calor e a baixa temperatura às folhas de couve fornecem extratos com alta atividade antioxidante, e apesar de não ter ocorrido diferença estatística entre tratamento de FSC, FCP e FFP o teor de fenólicos totais foi mais alto nas FSC e FCP. Tratamentos térmicos que podem aumentar a vida de prateleira da couve. Foram encontradas baixas quantidades de flavonóides totais, sendo que as FFP em nitrogênio líquido fornecem extratos com maior teor. O tratamento de FFT no liquidificador apresentou menor valor em todos os aspectos analisados.

A metodologia utilizada pra preparado do extrato aquoso de couve foi eficiente para obter um produto com boa atividade antioxidante. A utilização de água como solvente e a

concentração de 0,1 g mL⁻¹ em folhas de couve obteve-se resultados satisfatórios de atividade antioxidante, compostos fenólicos totais e flavonóides totais.

Sendo a couve um alimento de fácil acesso, baixo custo e propriedades nutritivas o extrato produzido pode ser empregado na alimentação humana como um bom substituinte dos antioxidantes sintéticos.

7 REFERÊNCIAS

ADEGOKE, G. O.; KUMAR, M. N.; GOPALAKRISHNA, A. G.; VARDARAJ, M. C.; SAMBAIAH, K.; LOKESH, B. R. Antioxidants and lipid oxidation in food – a critical appraisal. **J. Food Sci. Technol.**, v. 35, p. 283-298, 1998.

AGBAJE, E. O.; OKPARA, C. S. Antiulcer activity of aqueous extract of fresh leaf of *Brassica oleraceae* linn. Var. *Acephala* (d.c) alef) (Brassicaceae). **International Research Journal of Pharmacy**, v. 4, n. 8, p. 107-111, 2013

ALANÍS-GARZA, P. A. BECERRA-MORENO, A., MORA-NIEVES, J. L., MORA-MORA, J. P., & JACOBO-VELÁZQUEZ, D. A. (2015). Effect of industrial freezing on the stability of chemopreventive compounds in broccoli. **International Journal Food Sciences and Nutrition**, 66(3), 282–288.

ALI, S. S., KASOJU, N., LUTHRA, A., SINGH, A., SHARANABASAVA, H., SAHU, A., BORA, U. Indian medicinal herbs as sources of antioxidants. **Food Research International**, v. 41, p. 1–15, 2009.

ARUOMA, O.I. Methodological characterizations for characterizing potential antioxidant actions of bioactive components in plant foods. **Mutation Research**, v.9-20. (2004).

AYAZ, F. A., HAYIRLIOGLU-AYAZ, S, ALPAY-KARAOGLU, S., GRÚZ, J., VALENTOVÁ, K., ULRICHOVÁ, J., & STRNAD, M. (2008). Phenolic acid contents of kale (*Brassica oleraceae* L. var. *acephala* DC.) extracts and their antioxidant and antibacterial activities. **Food Chemistry**, 107, 19-25, 2008

AZEVEDO, A. M., ANDRADE JÚNIOR, V. C., FERNANDES, J. S. C., PEDROSA, C. E., VALADARES, N. R., FERREIRA, M. A. M., & MARTINS, R. A. V. (2014). Divergência genética e importância de caracteres morfológicos em genótipos de couve. **Revista Horticultura Brasileira**, 32(1), 48-54.

BALKAYA A; YANMAZ R. 2005. Promising kale (*Brassica oleracea* var. *acephala*) populations from Black Sea region, Turkey. **New Zealand Journal of Crop and Horticultural Science** 33: 1-7.

BERNAL GÓMEZ, M.E.; MENDONÇA- JÚNIOR, C.X.; MANCINI FILHO, J. Estabilidade oxidativa de huevos enriquecidos com ácidos grasos poliinsaturados Omega 3, frente a antioxidantes naturales. **Rev. Bras. Cienc. Farmac.**, São Paulo, v.39, p. 426- 432, 2003.

BHANDARI, S. R., & Kwak, J.-H. (2015). Chemical composition and antioxidant activity in different tissues of Brassica vegetables. *Molecules*, 20(1), 1228-1243

BIANCHI, M. L. P; ANTUNES, L. M. G.; Radicais Livres e os Principais Antioxidantes da Dieta, **Revista de Nutrição.**; Campinas, v. 12, n. 2, p. 123-130, mai., 1999.

BRAND-WILLIAMS, W., CUVELIER, M.E. E BERSET, C. (1995). Use a free radical method to evaluate antioxidant activity. **Food Sci Technol** 28: 25-30. (1995).

BUB, A.; WATZL, B.; BLOCKHAUS, M.; BRIVIBA, K.; LIEGIBEL, U.; MÜLLER, H.; POOL- ZOBEL, B.L.; RECHKEMMER, G. Fruit juice consumption modulates antioxidative status, immune status and DNA damage. *J. Nutr. Biochem.*, Stoneham, v. 14, n.2, p. 90-98, 2003.

CERUTTI, P.A. Oxy-radicals and cancer. **Lancet**, London, v.344, n. 8926, p.862-863, 1994.

CHEYNIER, V. Polyphenols in foods are more complex than often thought. *Am J Clin Nutr*; . n. suppl1, p. 223-229, 2005.

COSTA, E. D. A., FIGUEIREDO, E. A. T., CHAVES, C. S., ALMEIDA, P. C., VASCONCELOS, N. M., MAGALHÃES, I. M. C., ... PAIXÃO, L. M. N. (2012). Avaliação microbiológica de alfaces (*Lactuca sativa* L.) convencionais e orgânicas e a eficiência de dois processos de higienização. **Revista Alimentos e Nutrição**, 23(3), 387-392.

DEWANTO, V., WU, X., ADOM, K. K., & LIU, R. H. (2002). Thermal processing enhances the nutritional value of tomatoes by increasing total antioxidant activity. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, 50, 3010-3014.

DIXON RA, Steele CL. Flavonoids and isoflavonoids - a gold mine for metabolic engineering. **Trends Plant Sci**. Oct;4(10):394-400. 1999

ESCALADA, G.; BRUMOVSKY, L. A, HARTWIG. V. G. Influencia de la zona de cultivo y procesamiento de la yerba mate sobre su contenido de polifenoles totales y capacidad antioxidante. **Revista Ciência e Tecnologia**, v. 13, n. 15, p. 66-74, 2011

FRANKEL, E.N.; MEYER, A.S. The problem of using onedimensional methods to evaluate multifunctional food and biological antioxidants. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, v.80, p.1925-1941, 2000.

GÁMEZ-MEZA, N.; NORIEGA-RODRÍGUEZ, J.A.; MEDINA-JUÁREZ, L.A.; ORTEGA-GARCÍA, J.; CÁZAREZ-CASANOVA, R.; ANGULO-GUERRERO, O. Antioxidant activity in soybean oil of extracts from Thompson Grape Bagasse. **Journal of the American Oil Chemists Society**, Chicago, v.76, n.12, p.1445-1447, Dec. 1999.

GÁMEZ-MEZA, N.; NORIEGA-RODRÍGUEZ, J.A.; MEDINA-JUÁREZ, L.A.; ORTEGA-GARCÍA, J.; CÁZAREZ-CASANOVA, R.; ANGULO-GUERRERO, O. Antioxidant activity in soybean oil of extracts from Thompson Grape Bagasse. **Journal of the American Oil Chemists Society**, Chicago, v.76, n.12, p.1445-1447, Dec. 1999.

GAVA, A.J. **Princípios de tecnologia de alimentos**. São paulo: Nobel, 2002.

HAGEN, S. F., Borge, G. I. A., Solhaug, K. A., & Bengtsson, G. B. (2009). Effect of cold storage and harvest date on bioactive compounds in curly kale (*Brassica oleracea* L. var. *acephala*). *Postharvest Biology and Technology*, 51, 36–42.

HALLIWELL, B.; GUTTERIDGE, J. M. C.; CROSS, C. E.; Free radicals, antioxidants, and human disease: where are we now? **J. Lab. Clin. Med.** 1992, 119, 598

HARBORNE, J. B.; WILLIAMS, C. A. Advances in flavonoid research since 1992. **Phytochemistry**, New York, v. 52, n. 6, p. 481- 504, 2000

HARTMAN, P.E., SHANKEL, D.M. Antimutagens and anticarcinogens: a survey of putative interceptor molecules. **Environmental and Molecular Mutagenesis**, New York, v.15, n.3, p.145-182, 1990

HENDLER SS. **A enciclopédia de vitaminas e minerais**. Rio de Janeiro: Ed. Campus. 576p. 1994

HIROSE, M.; HAGIWARA, A.; HASUI,; INOVE, K.; ITO, N. Combined effects of BHA and other antioxidants in induction of forestomach lesions in rats. **Cancer Lett.**, Shannon, v.30, n.2, p. 169-174, 1986

HOLLMAN PCH, Katan MB. Dietary flavonoids: intake, health effects and bioavailability. **Food Chem Toxicol**; 37 (9/10): 937-42. 1999.

HUANG, D.; OU, B.; PRIOR, R. L. The chemistry behind antioxidant capacity assays. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, Easton, v. 53, n. 6, p. 1841-1856, 2005.

ISMAIL, A.; MARJAN, Z. M.; FOONG, C. H. Total antioxidant activity and phenolic content in selected vegetables. **Food Chemistry**, Barking, v. 87, n. 4, p. 581-586, 2004.

JAISWAL, A. K., Abu-Ghannam, N., & Gupta, S. (2011). A comparative study on the polyphenolic content, antibacterial activity and antioxidant capacity of different solvent extracts of *Brassica oleracea* vegetables. **International Journal of Food Science and Technology**, 47(1), 223-231. 2011

JOHNSTON GAR. Flavonoid nutraceuticals and ionotropic receptors for the inhibitory neurotransmitter GABA. **Neurochem Int.** 2015; 89: 120-125.

KAULMANN, A., Jonville, M.-C., Schneider, Y.-J., Hoffmann, L., & Bohn, T. Carotenoids, polyphenols and micronutrient profiles of *Brassica oleracea* and plum varieties and their contribution to measures of total antioxidant capacity. **Food Chemistry**, 155, 240-250. 2014

KORUS, A. (2011). Level of vitamin C, polyphenols, and antioxidant and enzymatic activity in three varieties of kale (*Brassica oleracea* L. var. *acephala*) at different stages of maturity. **International Journal of Food Properties**, 14(1), 1069-1080.

LARSON, R. A.; **Naturally Occurring Antioxidants**, Lewis Publishers: New York, 1997, p. 1.

LEHNINGER, A.L.; NELSON, D.L.; COX, M.M. **Princípios de Bioquímica**. 2. ed. São Paulo: Sarvier, 2000. 839p

- LIMA, V. L. A. G; MELO, E. A.; LIMA, L. S.; NASCIMENTO, P. P. Caracterização físico-química e sensorial de pitanga roxa. **Revista Brasileira de Fruticultura**, São Paulo, v. 22, p. 382-385, 2000
- MANACH C, SCALBERT A, MORAND C, REMESY C, JIMENEZ L. Polyphenols: food sources and bioavailability. **Am J Clin Nutr** 2004;79(5):727-47.
- MARINOVA, E.M.; YANISHILIEVA, N.V. Antioxidant activity and mechanisms of action of some phenolic acids at ambient and high temperatures. **Food Chem.**, Washington, v. 81, n.2, p. 189-197, 2003
- MARINOVA, E.M.; YANISHILIEVA, N.V. Antioxidant activity and mechanisms of action of some phenolic acids at ambient and high temperatures. **Food Chem.**, Washington, v. 81, n.2, p. 189-197, 2003
- MARIOD, B. A., IBRAHIM, R. M., ISMAIL, M., ISMAIL, N. Antioxidant activities of phenolic rich fractions (PRFs) obtained from black mahlab (*Monechma ciliatum*) and white mahlab (*Prunus mahaleb*) seedcakes. **Food Chemistry**, v. 118, p. 120– 127, 2009.
- MARTINEZ-VILLALUENGA, C., PEÑAS, E., CISKA, E., PISKULA, M. K., KOZLOWSKA, H., VIDAL-VALVERDE, C., & FRIAS, J. (2010). Time dependence of bioactive compounds and antioxidant capacity during germination of different cultivars of broccoli and radish seeds. **Food Chemistry**, 120, 710-716.
- MCCORD, J. M. Free radicals and pro-oxidants in health and nutrition. **Food. Technol.**v. 48, n. 3, p. 106-110, 1994
- MELO, C. M. T.; FARIA, J. V. (2014). Composição centesimal, compostos fenólicos e atividade antioxidante em partes comestíveis não convencionais de seis olerícolas. **Biosci. J.**, Uberlândia, v. 30, n. 1, p. 93-100, 2014
- MELO, E. A., Maciel, M. I. S., Lima, V. L. A. G., & Santana, A. P. M. (2006). Capacidade antioxidante de hortaliças submetidas a tratamento térmico. Nutrire: **Revista da Sociedade Brasileira de Alimentação e Nutrição**, 34(1), 85-96.
- MIDDLETON, E.; KANDASWAMI, C.; THEOHARIDES, T. C. The effects of plant flavonoids on mammalian cells: implications for inflammation, heart disease, and cancer. **Pharmacol. Rev.** 2000, 52, 673.
- MIKSICEK RJ. In situ localization of the estrogen receptor in living cells with the fluorescent phytoestrogen coumestrol. **J Histochem Cytochem.** 1993 Jun;41(6):801- 10.
- MINISTÉRIO DA SAÚDE. Resolução n° 04 de 24 de novembro de 1988. Aditivos Intencionais. Brasília: Ministério da Saúde, 1988
- MOTA, R.V. da. Avaliação da qualidade físico-química e aceitabilidade de passas de pêssigo submetidas a desidratação osmótica. **Ciênc. Tecnol.** Campinas, v. 25, n. 1, p. 289-794, out.-dez., 2005

MURADOR, D. C., MERCADANTE, A. Z., & ROSSO, V. V. D. (2016). **Cooking techniques improve the levels of bioactive compounds and antioxidant activity in kale and red cabbage.** *Food Chemistry*, 196(1), 1101-1107.

NICOLI, M. C.; ANESE, M.; PARPINEL, M. Influence of processing on the antioxidant properties of fruit and vegetables. **Trends Food Sci. Technol.**, v. 10, n. 3, p. 94-100, 1999.

NISSEN, L.R.; MANSSON, L.; BERTELSEN, G.; HUYHBA., T.; SKIBSTED, L.H. Protection of dehydrated chicken meat by natural antioxidants as evaluated by electron spin resonance spectrometry. **J. Agric. Food Chem.**, Washington, v.48, n.11, p. 5548- 5556, 2001

NULL, G., & FELDMAN, M. (2003).The health-boosting properties of Super Foods. **Townsend Letter**, 62-67. p.523-524, 2003.

NULL, G.; FELDMAN, M.The health-boosting properties of Super Foods.**Townsend Letter**, p. 62-67, 2011

REDDY, V.; URROJ, A.; KUMAR, A. Evaluation of antioxidant activity of some plant extracts and their application in biscuits. **Food Chem.**, Amsterdam, v. 90, n.1-2, p. 317- 321, 2005.

RICE-EVANS C, Miller N. Measurement of the antioxidant status of dietary constituents, low density lipoproteins and plasma. *Prostaglandins Leukot Essent Fatty Acids*. 1997 Oct;57(4-5):499-505.

RIGUEIRA, G. D. J., Bandeira, A. V. M., Chagas, C. G. O., & Milagres, R. C. R. M. (2016). Atividade antioxidante e teor de fenólicos em couve-manteiga (*Brassica oleracea l. var. acephala*) submetida a diferentes sistemas de cultivo e métodos de preparo. *Semina: Ciências Biológicas e da Saúde*, 37(2), 3-12.

ROSSING, D.; KAHL, R.; HILDEBRANDT, A. G.Effect of synthetic antioxidants on hydrogen peroxide formation, oxyferro cytochrome P450 concentration and oxygen consumption in liver microsomes. **Toxicology**, Amsterdam, v. 34, n.1, p. 67-77, 1985.

SAGGIN, Samara. **Avaliação físico-química de hortaliças orgânicas congeladas.** 2018. Trabalho de conclusão de curso (engenharia de alimentos). Campus de LARANJEIRAS DO SUL , UNIVERSIDADE FEDERAL DA FRONTEIRA SUL, Laranjeiras do Sul, 2018.

SÁNCHEZ-MORENO, C. Methods used to evaluate the free radical scavenging activity in foods and biological systems. **Food Science Technology International**, v. 8, n.3, p. 121-137, 2002

SANDOVAL, M., OKUHAMA, N.N., ANGELES, F.M., MELCHOR, V.V., CONDEZO, L.A., LAO, J. E MILLER, M.J.S. (2002). Antioxidant activity of the cruciferous vegetable Maca (*Lipidium meyenii*). **Food Chem** 79: 207-213.

SCALBERT, A.; WILLIAMSON, G. Dietary intakeand bioavailability of polyphenols. **J. Nutr.**, v. 130, p. 2073-2085, 2000

SHAHIDI F, NACZK M. Food phenolics: sources, chemistry, effects and applications. Lancaster: **Technomic**; 1995.

SIKORA, E., Cieřlik, E., Leszczyńska, T., Filipiak-Florkiewicz A., Pisulewski, P. M. (2008). The antioxidant activity of selected cruciferous vegetables subjected to aquathermal processing. *Food Chemistry*, 107, 55-59

SIKORA, E., Cieřlik, E., Leszczyńska, T., Filipiak-Florkiewicz A., Pisulewski, P. M. (2008). The antioxidant activity of selected cruciferous vegetables subjected to aquathermal processing. *Food Chemistry*, 107, 55-59.

SILVA, J. A.: **Tópicos da tecnologia dos alimentos**. São Paulo: livraria Varela, 200.

SIMIC, M. G.; Javanovic, S. V. Em **Inactivation of oxygen radicals by dietary phenolic compounds in anticarcinogenesis**; Ho, C. T.; Osawa, T.; Huang, T. M.; Rosen, R. T., eds.; *Food Phytochemicals for Cancer Prevention*: Washington, 1994, p. 20.

SIMÕES, C. M. O.; Schenkel, E. P.; Gosmann, G.; Mello, J. C. P.; Mentz, L. A.; Petrovick, P. R.; *Farmacognosia - da Planta ao Medicamento*, 5ª ed., Editora da UFSC: Santa Catarina, 2004.

SIQUEIRA, F. M.; OETTERER, M.; REGINATOD'ARCE, M. B. Nutrientes antioxidantes. **Boletim SBCTA**, Campinas, v. 31, n. 2, p. 192-199, 1997

SOENGAS, P., Cartea, M. E., Francisco, M., Sotelo, T., & Velasco, P. (2012). New insights into antioxidant activity of Brassica crops. **Food Chemistry**, 134, 725-733. 2012

VALE, A. P. *et al.* Phytochemical composition and antimicrobial properties of four varieties of *Brassica oleracea* sprouts. **Food control**, v. 55, p. 248-256, 2015.