

Atividade antioxidante e teor de fenólicos em couve-manteiga (*brassica oleracea l. var. acephala*) submetida a diferentes sistemas de cultivo e métodos de preparo

Antioxidant activity and phenolic content in kale (*brassica oleracea l. var. acephala*) submitted to different cropping systems and preparation methods

Geysa Duarte Junger Rigueira¹, Ana Vlândia Moreira Bandeira², Camila Gonçalves Oliveira Chagas³, Regina Célia Rodrigues de Miranda Milagres⁴

Resumo

O estudo avaliou a influência de sistemas de cultivo e de métodos de preparo na atividade antioxidante e no teor de fenólicos de folhas e talos da couve manteiga (*Brassica Oleracea L. var. acephala*). Amostras de couve cultivadas pelo sistema convencional e orgânico foram pesadas, higienizadas e os talos separados das folhas. Foram submetidas aos modos de preparo: cru (couve *in natura*); calor seco (refogada) e calor úmido (imersa em água fervente). Avaliou-se a atividade antioxidante e os compostos fenólicos pelo método espectrofotométrico. A verificação de compostos fenólicos e compostos com atividade antioxidante foi realizada por Cromatografia em Camada Delgada (CCD). O sistema de cultivo orgânico e o preparo em calor seco foram os tratamentos que obtiveram os maiores percentuais de antioxidantes e teores de compostos fenólicos, principalmente, em folhas de couve. A atividade antioxidante variou de 38 a 87% nas folhas e de 13 a 56% nos talos de couve. Quanto aos compostos fenólicos os teores médios estiveram entre 173 e 244 mg EAG/100g nas folhas e 86 e 180 mg EAG/100g nos talos. As análises 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. Conclui-se que a combinação de sistema de cultivo orgânico e cocção em calor seco pode ser eficiente para preservação e ou aumento do teor de compostos fenólicos e da atividade antioxidante em talos e, principalmente, em folhas de couve.

Palavras chave: Alimento funcional. Compostos fenólicos. Cromatografia.

Abstract

The study evaluated the influence of cropping systems and methods of preparation on the antioxidant activity and phenolic content in kale leaf and stalks (*Brassica Oleracea L. var. acephala*). Kale samples cultivated in organic and conventional systems were analyzed. The vegetable was weighed, cleaned and stems were separated from leaves. After separation, the samples were submitted to the following modes of preparation: raw (fresh kale); dry heat (braised kale) and moist heat (kale immersed in boiling water). Each treatment consisted of three (3) repetitions. The samples were subjected to analysis of antioxidant

¹ Graduada em Ciência e Tecnologia de Laticínios pela Universidade Federal de Viçosa.

² Doutora em Ciências dos Alimentos pela Universidade de São Paulo. Atualmente é professor adjunto da Universidade Federal de Viçosa (MG). E-mail: ana.vladia@ufv.br

³ Mestre em Ciências da Nutrição pela Universidade Federal de Viçosa. Atualmente é professora temporária na Universidade Federal de Juiz de Fora Campus Governador Valadares

⁴ Doutora em Ciências pelo Centro de Energia Nuclear na Agricultura/Universidade de São Paulo - CENA/USP. E-mail: reginamilagres@ufv.br

activity and phenolic compounds spectrophotometrically. Identification of phenolic compounds and components with antioxidant activity was performed using Thin-Layer Chromatography (TLC). The organic cropping system and the preparation using dry heat were the treatments that had the highest percentage of antioxidants and levels of phenolics compounds in leaf and kale stalks. Antioxidant activity varied from 38 and 87% in leaves and 13 and 56% in stalks. As for the phenolic compounds, average levels were between 173 and 244 mg GAE / 100g in leaves and between 86 and 180 mg GAE / 100g in stalks. Analysis by TLC revealed that all extracts of leaf and kale stalks presented phenolic compounds as well as components with antioxidant activity, but not all correlated. It was concluded that the organic cropping system and cooking using dry heat could be effective in preserving and/or increasing the content of phenolics and antioxidant activity in leaf and kale stalks.

Keyword: Chromatography. Functional food. Phenolic compounds.

Introdução

Atualmente, é grande o interesse em manter uma alimentação saudável (VALE et al., 2015). Dentro desta perspectiva, o consumo de dietas ricas em frutas e hortaliças está associado com um menor risco de doenças cardiovasculares (DJOUSSÉ et al., 2004) e o controle contra o câncer (HUNG et al., 2004) o que é atribuído ao fato desses alimentos fornecerem uma mistura adequada de fitoquímicos, como antioxidantes naturais, fibras e outros compostos bioativos (NICOLI; ANESE; PARPINEL, 1999).

As hortaliças da família da *Brassicaceae* são bastante reconhecidas, principalmente, pelo teor de glucosinolatos, atividade antioxidante, compostos fenólicos, vitaminas e minerais (BAENAS; MORENO; GARCIA-VIGUERA, 2012). Estão entre os principais vegetais cultivados em todo o mundo e tem como representante a couve manteiga (*Brassica oleracea L. var. acephala*). Estas hortaliças são fonte de ferro, cálcio, fibras, vitaminas, antioxidantes e compostos fenólicos que protegem o corpo e os alimentos do estresse oxidativo (BAENAS; MORENO; GARCIA-VIGUERA, 2012). 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).

Azevedo (2012) descreve que a preocupação crescente com o binômio dieta-saúde tem provocado um aumento do número de pessoas que consomem alimentos orgânicos, já que no sistema convencional utilizam-se produtos químicos que, quando ingeridos podem ser prejudiciais à saúde humana. As consequências do cultivo convencional são elevação dos custos de produção, contaminação dos alimentos por agrotóxicos e redução de sua qualidade com vista ao surgimento das doenças crônicas degenerativas que ocasionam o aumento da mortalidade (CAMPOS, 2005; ORMOND et al., 2002; STAUB, 2003). Estudos que avaliaram diferenças entre alimentos cultivados em sistema convencional em relação ao orgânico demonstraram que alguns alimentos orgânicos tendem a apresentar um maior valor nutricional (SIDERER; MAQUET; ANKLAM, 2005) e sensorial (BORGUINI; OETTERER; DILVA, 2003). No sistema de cultivo orgânico não há presença de insumos químicos, respeitando o meio ambiente e as leis referentes ao cultivo.

O tratamento térmico ou o processamento de hortaliças também podem alterar de forma positiva ou negativa o conteúdo e a capacidade dos nutrientes. Dentre as principais mudanças temos: aumento do teor de compostos naturalmente presentes, 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). Estima-se que o processamento altera

o conteúdo, a atividade e a biodisponibilidade dos compostos bioativos presentes principalmente nos alimentos funcionais que agem no organismo de uma forma mais eficaz para a saúde de um ser humano (NICOLI; ANESE; PARPINEL, 1999).

Diante disso, o objetivo deste estudo foi avaliar a influência de sistemas de cultivo e do tratamento térmico na atividade antioxidante e no teor de fenólicos de folhas e de talos da couve manteiga (*Brassica Oleracea* L. var. *acephala*).

Métodos

Amostras

Foram analisados folhas e talos de couves manteiga (*Brassica Oleracea* L. var. *acephala*) cultivadas pelo sistema convencional e orgânico. A convencional foi adquirida no comércio local do centro da cidade de Teixeira, MG, e a orgânica de um produtor “agroecológico” na cidade de Viçosa, comercializada na Universidade Federal Viçosa – UFV, MG.

Preparo das Amostras

As couves *in natura* foram lavadas em água corrente e, em seguida sanitizadas com Hidrosteril (8 mg de cloro ativo por litro de água). Foram picadas de acordo com o modo de corte Juliana, pesadas em balança eletrônica, modelo Toledo® e fracionadas no Laboratório de Técnica Dietética do Departamento de Nutrição e Saúde – DNS da UFV. Após o corte, separaram-se os talos das folhas e fracionaram-se as amostras para realização dos seguintes modos de preparo: cru (couve *in natura*); calor seco (couve refogada, sem óleo e sem alho por 3 min) e calor úmido (couve imersa em água fervente por 8 min). Cada tratamento constou de 3 repetições. Na Tabela 1, encontram-se os códigos para identificação das amostras.

Tabela 1- Identificação das amostras.

Identificação das amostras de couve	Código
Folha Convencional Cru	FCC
Folha Convencional Calor Úmido	FCCU
Folha Convencional Calor Seco	FCCS
Talo Convencional Cru	TCC
Talo Convencional Calor Úmido	TCCU
Talo Convencional Calor Seco	TCCS
Folha Orgânica Cru	FOC
Folha Orgânica Calor Úmido	FOCU
Folha Orgânica Calor Seco	FOCS
Talo Orgânico Cru	TOC
Talo Orgânico Calor Úmido	TOCU
Talo Orgânico Calor Seco	TOCS

Fonte: Autores.

Preparo dos extratos

As amostras de couve foram trituradas em almofariz de porcelana e em seguida, cerca de 2 g foram pesadas em balança analítica Adventurer® (OHAUS Corporation, Pine Brook, Nova Jersey). Adicionou-se 20 mL de solução de metanol/água ($\text{CH}_4\text{O}/\text{H}_2\text{O}$) a 60% (v/v), cobriu-se com *parafilm M* e submeteu-se a agitação por 1 h antes de serem filtradas. Os extratos obtidos foram armazenados em frascos âmbar, etiquetados e estocados sob refrigeração (5 °C – 8 °C) por 7 dias para posterior caracterização.

Avaliação da Atividade Antioxidante pelo Método de Sequestro do Radical DPPH'

A análise seguiu o método proposto por Brand-Williams, Cuvelier, Berset (1995) com adaptações. Foram coletados 0,1 mL de cada extrato das amostras de couve e adicionados de 1,5 mL de solução DPPH'. Os tubos foram agitados em vortex por aproximadamente 1min e em seguida ficaram em repouso por 30 min em ambiente fechado e escuro.

A absorvância em 517 nm foi determinada em espectrofotômetro modelo UV-1601® (*Shimadzu Corporation*, São Paulo, Brasil). As amostras foram analisadas em triplicata. A atividade de retirada do radical (ARR) foi calculada utilizando a equação:

$$ARR(\%) = \left[1 - \left(1 - \frac{Abs.amostra - Abs.branco}{Abs.controle} \right) \right] \times 100$$

Onde:

Abs amostra: absorvância da amostra-teste (solução de DPPH[·] com a amostra-teste)

Abs do branco: absorvância do branco da amostra (solução de metanol)

Abs do controle: solução de DPPH[·] sem a amostra com Abs de 0,9 a 1.

Fenólicos Totais

Foram avaliados conforme método descrito por Singleton et al. (1999). Dispensou-se 0,5 mL de cada extrato das amostras em tubos de ensaio e adicionou-se 0,5 mL de carbonato de sódio (Na₂CO₃) a 7,5% e 0,5 mL do reagente de *Folin-Ciocalteu* a 20%. Após esta etapa, os tubos foram agitados em vortex por aproximadamente 1 min e em seguida ficaram em repouso por 30 min tampadas em local escuro. A absorvância em 765 nm foi lida em espectrofotômetro modelo UV-1601® (*Shimadzu Corporation*, São Paulo, Brasil). As amostras foram analisadas em triplicata e os resultados foram expressos em mg de fenólicos totais de equivalente de ácido gálico (EAG) por 100 g de couve.

Separação por Cromatografia em Camada delgada (CCD) e Verificação da Presença de Compostos Fenólicos e de Compostos com Atividade Antioxidante

Para a verificação da presença de compostos fenólicos com atividade antioxidante foi utilizada a cromatografia em camada delgada (CCD). Seguiram-se os procedimentos descritos por Duve; White (1991), adaptado por Moreira; Mancini; Filho (2003).

Utilizou-se como fase móvel uma mistura de n-butanol/ácido acético/água (C₄H₁₀O/C₂H₄O₂/H₂O), na proporção de 40:10:50. Esta fase móvel foi acrescida em cubas de vidro, permanecendo por 24 h em solução para saturar.

Duas placas de alumínio revestidas com sílica Gel 60G (MERC®) de 25 µm de espessura, medindo 20 por 20 cm, foram ativadas em estufa a 105°C por 1 hora. Após este tempo foram colocadas em dessecadores por 30 minutos até alcançarem temperatura ambiente. Assim, com o auxílio de um capilar de 10 µL dos extratos das amostras foram aplicadas a 2 cm da base da placa. Foi estabelecido 15 cm de altura da base de aplicação das amostras como limite de corrida cromatográfica, que seria quando a fase móvel atingisse este limite. Depois de um tempo médio de 3 a 4 horas (assim que alcançaram o limite da corrida), as placas foram retiradas das cubas com a fase móvel e colocadas em capelas para secagem. Após este procedimento, foram reveladas com soluções específicas, em placas distintas, ora para compostos fenólicos ora para atividade antioxidante.

Os reveladores utilizados para avaliar a presença de compostos com atividade antioxidante foram: 9 mg de β-caroteno em 30 mL de clorofórmio (CHCl₃) + 20 mg de ácido linoléico (C₁₈H₃₂O₂) em 60 mL etanol (C₂H₆O). As manchas com atividade antioxidantes reveladas foram aquelas que obtiveram coloração que variaram do amarelo ao alaranjado. Os reveladores para avaliar a presença de compostos fenólicos foram: 1% de ferrocianeto de potássio (K₃Fe(CN)₆) em água + 1% cloreto férrico (FeCl₃). As manchas obtidas tiveram coloração azul com diferentes tonalidades. As bandas reveladas foram medidas e os resultados expressos pelo fator de retenção (Rf) que corresponde à razão entre a distância percorrida pela substância revelada com atividade antioxidante, bem como revelada com a presença de compostos fenólicos, com a distância percorrida pela fase móvel. As corridas cromatográficas foram feitas em duplicata.

Análise Estatística

Os resultados foram analisados utilizando o teste *t* de Student para a comparação das médias entre os sistemas de cultivo. Já as diferenças entre os tratamentos foram analisadas pelo método de análise de variância (ANOVA) com comparação de médias pelo teste de Tukey. Todos os testes foram conduzidos utilizando o software IBM SPSS® versão 20.0, considerando um nível de confiança de 95% ($\alpha=5\%$).

Resultados

As folhas de couve exibiram capacidade de sequestro do radical DPPH superior à dos talos ($p<0,05$). Os percentuais de inibição de DPPH nas folhas variaram de 38 a 87% e nos talos de 13 a 56%. Na tabela 2, encontram-se os resultados da atividade antioxidante (AA) de folhas e de talos de couve cultivada de modo convencional e orgânico, submetidas a diferentes formas de preparo.

Tabela 2 - Percentual de inibição de DPPH de folhas e talos de couve convencional e orgânica submetida ou não a tratamentos térmicos

Tratamento	Convencional (%)	Orgânica (%)
Folhas		
Cru	44,7 ± 1,8 ^{bB}	68,6 ± 1,2 ^{aB}
Calor úmido	37,7 ± 7,3 ^{aB}	50,9 ± 4,0 ^{aC}
Calor seco	72,5 ± 3,0 ^{bA}	86,9 ± 6,8 ^{aA}
Talos		
Cru	12,8 ± 2,3 ^{bA}	29,3 ± 3,6 ^{aB}
Calor úmido	12,7 ± 2,0 ^{bA}	32,1 ± 4,2 ^{aB}
Calor seco	20,5 ± 2,5 ^{bA}	56,0 ± 10,4 ^{aA}

Resultados expressos como média ± desvio padrão, obtidos de 3 repetições, em triplicata. Letras minúsculas diferentes na mesma linha (sistema cultivo) e maiúsculas na mesma coluna (tratamento térmico) indicam diferenças entre as médias ($p < 0,05$).

Fonte: Autores

As folhas de couve orgânicas submetidas ao calor seco apresentaram a maior atividade antioxidante - AA entre todos os tratamentos (87%). Com relação aos sistemas de cultivo, todas as amostras de folhas e talos cultivados no sistema orgânico apresentaram AA mais elevados comparadas com o sistema convencional, exceto para as folhas submetidas ao calor úmido. Entretanto, é válido destacar que o valor de *p* encontrado ao comparar essas médias (FOCU e FCCU) foi de $p=0,052$, o que representa um forte indicativo de que folhas orgânicas apresentaram maior AA que as folhas convencionais no calor úmido.

Quando comparados os modos de preparo, todas as amostras submetidas ao calor seco obtiveram os maiores percentuais de AA. O modo de preparo cru e o calor úmido não diferiram entre si, com exceção das folhas cultivadas no sistema orgânico que tiveram os resultados de AA na seguinte ordem: FOCS>FOC>FOCU e os talos convencionais TCC=TCCU=TCCS.

Os teores de compostos fenólicos estiveram entre 173 e 244 mg EAG/100g em folhas de couve e entre 86 e 180 mg EAG/100g nos talos. As folhas processadas em calor seco e cultivadas

no sistema orgânico obtiveram os maiores teores de fenólicos (Tabela 3). Em relação aos sistemas de cultivo, o orgânico foi o mais promissor para retenção de fenólicos, principalmente, nos talos da

planta ($p < 0,05$). Os tratamentos térmicos aplicados também influenciaram o teor de fenólicos das folhas e dos talos da couve. O calor seco foi o mais eficiente para o aumento do teor de fenólicos.

Tabela 3 - Fenólicos totais de folhas e talos de couve convencional e orgânica submetida ou não a tratamentos térmicos

Tratamento	Convencional (mg EAG/100g)	Orgânica (mg EAG/100g)
Folhas		
Cru	172,8 ± 18,5 ^{aB}	181,5 ± 14,2 ^{aC}
Calor úmido	182,5 ± 9,17 ^{bB}	212,7 ± 14,1 ^{aB}
Calor seco	230,2 ± 5,9 ^{aA}	243,6 ± 7,8 ^{aA}
Talos		
Cru	83,7 ± 8,8 ^{bB}	134,7 ± 9,18 ^{aB}
Calor úmido	91,3 ± 10,3 ^{bB}	158,3 ± 28,9 ^{aB}
Calor seco	125,6 ± 10,3 ^{bA}	180,8 ± 121,9 ^{aA}

Resultados expressos como média ± desvio padrão, obtidos de 3 repetições, em triplicata. Letras minúsculas diferentes na mesma linha (sistema cultivo) e maiúsculas na mesma coluna (tratamento térmico) indicam diferenças entre as médias ($p < 0,05$).

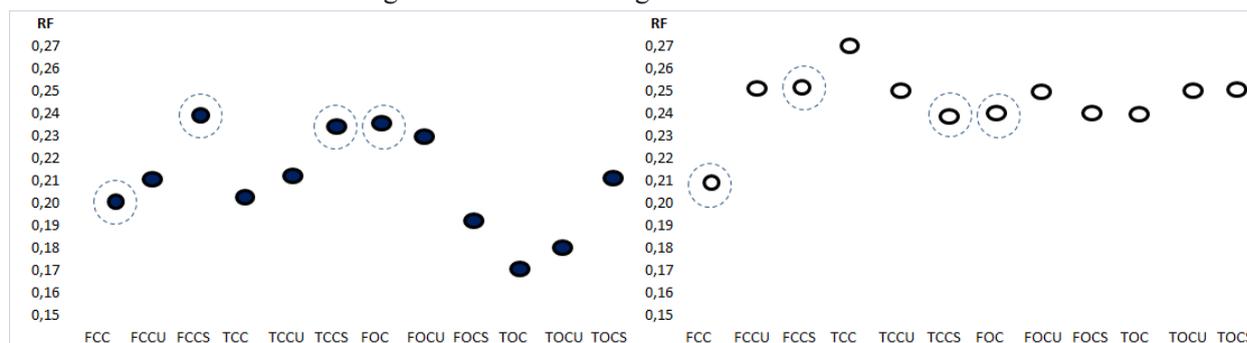
Fonte: Autores

Na figura 1 podem-se identificar as correspondências entre os Rf (Fator de Retenção) dos extratos das folhas e talos de couve obtidos por cromatografia em camada delgada (CCD). Os extratos de todas as amostras de folha de couve e de talos apresentaram bandas reconhecidas com AA pelo sistema de revelação β -caroteno/ácido linoléico e fenólicos pelo sistema revelador ferricianeto/cloreto férrico. Contudo, apesar de todos os extratos apresentarem atividade antioxidante, bem como a presença de compostos fenólicos, apenas os extratos da Folha Convencional Crua (FCC), Folha Convencional Calor Seco (FCCS), Talo Convencional Calor Seco (TCCS) e Folha Orgânica Crua (FOC), apresentaram

Rf correspondentes, demonstrando que nestes extratos a atividade antioxidante foi decorrente da presença de compostos fenólicos de mesmo peso molecular.

Foi possível verificar que houve bandas com RF que não se corresponderam, ou seja, não houve relação entre as bandas com presença de compostos fenólicos daquelas com atividade antioxidante nas mesmas amostras. É o caso do extrato FOCS, por exemplo, o qual para a placa revelada com o revelador para identificação da presença de compostos fenólicos apresentou uma média de RF de 0,19 já para a mesma amostra, quando em placa revelada para verificação de substâncias com atividade antioxidante apresentou RF com média de 0,24.

Figura 1 - Valores de Rf (Fator de retenção) obtidos em extratos de folhas e talos de couve convencional e orgânica submetida ou não a tratamentos térmicos, através de cromatografia em camada delgada.



A- [●] Revelação no sistema ferricianeto/cloreto férrico B- [○] Revelação no sistema β-caroteno/ácido linoléico.
 [○] Bandas que ao compararem os Rf não apresentaram diferença estatística, sugerindo serem os mesmos compostos.
 [Análises feitas em duplicata].

FCC – Folha Convencional Crua; FCCU – Folha Convencional Calor Úmido; FCCS – Folha Convencional Calor Seco; TCC – Talo Convencional Cru; TCCU – Talo Convencional Calor Úmido; TCCS – Talo Convencional Calor Seco; FOC – Folha Orgânica Crua; FOCU – Folha Orgânica Calor Úmido; FOCS – Folha Orgânica Calor Seco; TOC – Talo Orgânico Cru; TOCU – Talo Orgânico Calor Úmido; TOCS – Talo Orgânico Calor Seco

Fonte: Autores

Discussão

A atividade antioxidante (AA) dos alimentos pode estar relacionada a substâncias que retardam a velocidade da oxidação, por meio de um ou mais mecanismos diferentes, como inibição de radicais livres e complexação de metais (PIETTA, 2000). O princípio do método de sequestro de radicais livres está baseado no descolorimento de uma solução composta por radicais estáveis DPPH[•] (2,2-Difenil-1-Picrilhidrazil) de 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).

Nos resultados apresentados neste estudo as amostras de folhas e talos cultivados no sistema orgânico apresentaram AA mais elevadas comparadas com o sistema convencional o que pode ser explicados por alterações genéticas e ou ambientais nas fases de pré e pós-colheita. Fatores como, sistema de cultivo, temperatura de armazenamento, grau de estresse mecânico, exposição à luz e disponibilidade de oxigênio podem afetar o metabolismo de síntese

e consumo de compostos com AA (AHERNE; O'BRIEN, 2002; BURNS et al., 2001; SELLAPPAN; AKOH; KREWER, 2002). Nos estudos realizados por Machado (2012) com brócolis (*Brassica oleracea* var. *Italica*) e por Arbos et al. (2010) com almeirão, alface, e rúcula também foram encontrados percentuais mais elevados de AA em hortaliças submetidas ao cultivo orgânico.

No cultivo orgânico não há aplicação de pesticidas, o que pode favorecer ao aumento nos níveis de fenólicos e uma maior síntese de substâncias ativas produzidas como resposta a estresses bióticos e abióticos (TAROZZI et al., 2006). Este fato pode explicar a maior retenção de fenólicos na couve cultivada organicamente. Além disso, relata-se que possíveis incidências de pragas e patógenos, no sistema de cultivo orgânico, podem provocar um aumento significativo no teor de compostos fenólicos pelas plantas, com o objetivo de aumentar suas próprias defesas naturais (ASAMI et al., 2003). Arbos et al. (2010) avaliaram alface, rúcula e almeirão e também verificaram que o teor de fenólicos foi superior no sistema orgânico.

A couve é um alimento com importante valor nutricional e funcional. Apresenta diferentes tipos de minerais (cálcio, ferro, magnésio, fósforo, potássio, sódio e zinco); vitaminas (tiamina, riboflavina, ácido fólico, niacina, vitaminas C, B6, A, E e K) e lipídios (USDA, 2013), além de um alto teor de compostos fenólicos. No estudo de Ayaz et al. (2008) foram encontrados nove diferentes tipos de ácidos fenólicos: gálico, protocatecuico, p-hidroxibenzóico, vanílico, salicílico, p-cumárico, caféico, ferúlico e sinápico.

No presente estudo, os maiores teores de compostos fenólicos foram observados nos talos e folhas de couves submetidas ao calor seco. Esse resultado pode estar relacionado à melhor eficiência na extração dos fenólicos após a cocção (ISMAIL; MARJAN; FOONG, 2004). Resultados semelhantes foram registrados por Sultana, Anwar, Iqbal (2008) ao demonstrarem em cenoura, ervilha e espinafre aumento do conteúdo de fenólicos após cocção a vapor. Entretanto, houve perdas de fenólicos de 12% em couve, 14% em espinafre e 20% em repolho após cocção (ISMAIL; MARJAN; FOONG, 2004). Vale ressaltar que, resultados divergentes quanto ao efeito do tratamento térmico sobre o teor de fenólicos podem ser atribuídos à falta de padronização quanto à forma de cálculo da estabilidade e a correção para alterações de peso (CAMPOS et al., 2008).

Além disso, o comportamento do vegetal frente ao tipo de calor (seco ou úmido), parte da planta (folha ou talo) e tipo de cultivo (convencional ou orgânico) interfere diretamente na composição química do vegetal. Para o tipo de calor, a presença de água pode criar pontes dissulfeto em suas proteínas de reserva e com isso algumas reações podem acontecer e alguns complexos serem formados (QUEIROZ et al., 2011).

Quando associado ao tipo processamento térmico, pode haver derivatização dos fenólicos, os quais nem todos os subprodutos podem apresentar AA. É o caso de alguns fenólicos de alto peso molecular que podem derivatizar em dois ou mais ácidos fenólicos de menor

peso molecular (ácido clorogênico pode derivatizar-se em ferúlico, caféico e cumárico). E, dependendo da técnica de identificação, nem todos são possíveis de serem identificados por formarem, facilmente, complexos com outras substâncias como lipídios e proteínas. Com isso, o processamento da couve e ou as técnicas de análise utilizadas neste estudo, método de *Folin-Ciocalteu* e DPPH, podem ter interferido nos resultados do teor de fenólicos e AA.

Para minimizar estas inferências, uma etapa analítica a mais, utilizando a CCD pode ser útil para realizar a identificação dos compostos presentes nas diferentes bandas encontradas. Moreira e Mancini Filho (2003, 2004) utilizaram a CCD para identificação prévia dos compostos fenólicos por cromatografia a gás com espectrofotometria de massa (CGMS), por permitir uma purificação das substâncias antes de utilizar uma metodologia mais específica como a CGMS.

Neste estudo, as amostras apresentam AA, verificado pela presença de compostos com capacidade redutora, identificados pela CCD como compostos fenólicos. De modo geral, os Rfs de fenólicos e antioxidantes tiveram valores mais próximos nas folhas do que nos talos, indicando que os conteúdos de fenólicos presentes nas folhas tiveram maior correlação com as bandas reveladas como antioxidantes.

Espera-se que os resultados deste estudo auxiliem na escolha do sistema de cultivo e do método de cocção não só para couves, mas para outras hortaliças folhosas.

Conclusões

As folhas e os talos de couve cultivados pelo sistema orgânico e que receberam tratamento térmico em calor seco apresentaram maior atividade antioxidante (87% folhas e 56% talos) e obtiveram os mais elevados teores de compostos fenólicos (244 mg /100g EAG folhas e 180 mg /100g EAG). Todas as amostras apresentam atividade antioxidante, verificado pela presença de compostos com capacidade redutora, identificados pela CCD como compostos fenólicos. Sugere-se que mais pesquisas sejam realizadas para avaliar

a influência do sistema de cultivo e do método de preparo em mais compostos bioativos, em vitaminas e outras substâncias benéficas a saúde.

Agradecimentos

Os autores agradecem à Fundação de Amparo à Pesquisa de Minas Gerais (FAPEMIG) pelo incentivo cedido.

Referências

AHERNE, S. A.; O'BRIEN, N. M. Dietary flavonols: chemistry, food content, and, metabolism. *Nutrition*, Tarrytown, v. 18, n. 1, p. 75-81, Jan. 2002.

ARBOS, K. A.; FREITAS, R. J. S.; STERTZ, S. C.; DORNAS, M. F. Atividade antioxidante e teor de fenólicos totais em hortaliças orgânicas e convencionais. *Ciências e Tecnologia de Alimentos*, Campinas, v. 30, n. 2, p. 501-506, 2010.

ASAMI, D. K.; HONG, Y.; BARRET, D. M.; MITCHELL, A. E. Comparison of the total phenolics and ascorbic acid content of freeze-dried and air-dried marion berry, strawberry, and corn grown using conventional, organic, and sustainable agricultural practices. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, Easton, v. 51, n. 5, p. 1237-1245, 2003.

AYAZ, F. A.; HAYIRLIOGLU-AYA, Z. S.; ALPAY-KARAOGLU, S.; GRÚZ, J.; VALENTOVÁ, K.; ULRICHOV, J.; STRNAD, M. Phenolic acid contents of kale (*Brassica oleracea* L. var. *acephala* DC.) extracts and their antioxidant and antibacterial activities. *Food Chemistry*, Barking, v. 107, n. 1, p. 19-25, 2008.

AZEVEDO, E. *Alimentos orgânicos: ampliando os conceitos de saúde humana, ambiental e social*. Florianópolis: SENAC São Paulo, 2012.

BAENAS, N.; MORENO, D. A.; GARCIA-VIGUERA, C. Selecting sprouts of *Brassicaceae* for optimum phytochemical composition. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, Easton, v. 60, n. 45, p. 11409-11420, 2012.

BERNHARDT, S.; SCHLICH, E. Impact of different cooking methods on food quality: retention of lipophilic vitamins in fresh and frozen vegetables. *Journal of Food Engineering*, Davis, v. 77, n. 2, p. 327-333, 2006.

BIERI, J. G. Comments on the new dietary reference intake for vitamin E. *The American Journal of Clinical Nutrition*, Montgomery, v. 75, n. 4, p. 781, 2002.

BORGUINI, R. G.; OETTERER, M.; DILVA, M. V. Qualidade nutricional de hortaliças orgânicas. *Boletim da Sociedade Brasileira de Ciência e Tecnologia de Alimentos*, Campinas, v. 37, n. 1, p. 28-35, 2003.

BRAND-WILLIAMS, W.; CUVELIER, M. E.; BERSET, C. Use of a free radical method to evaluate antioxidant activity. *LWT: Food Science and Technology*, London, v. 28, p. 25-30, 1995.

BURNS, J.; GARDNER, P. T.; MATTHEWS, D.; DUTHIE, G. G.; LEAN, M. E. J.; CROZIER, A. Extraction of phenolics and changes in antioxidant activity of red wines during vinification *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, Easton, v. 49, n. 12, p. 5797-5808, 2001.

CAMPOS, F. M.; MARTINO, H. S. D.; SABARENSE, C. M.; PINHEIRO-SANT'ANA, H. M. Estabilidade de compostos antioxidantes em hortaliças processadas: uma revisão. *Alimentos e Nutrição*, Araraquara, v. 19, n. 4, p. 481-490, 2008.

CAMPOS, M. C. *Territorialização da agricultura orgânica no Paraná: preservando o meio ambiente e produzindo alimentos saudáveis*. 2005. Disponível em: <<http://www.igeo.uerj.br/VICBG-2004/Eixo1/e1%20279.htm>>. Acesso em: 10 fev. 2016.

DJOUSSÉ, L.; ARNETT, D. K.; COON, H.; PROVINCE, M. A.; MOORE, L. L.; ELLISON, R. C. Fruit and vegetable consumption and LDL cholesterol: The national heart, lung, and blood Institute Family Heart Study. *The American Journal of Clinical Nutrition*, Bethesda, v. 79, v. 2, p. 213-217, 2004.

DUVE, K. J.; WHITE, P. J. Extraction and identification of antioxidants in oats. *Journal of the American Oil Chemists' Society*, Washington, v. 61, n. 6, p. 365-370, 1991.

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.

- HUNG, H. C.; JOSHIPURA, K. J.; JIANG, R.; HU, F. B.; HUNTER, D.; SMITH-WARNER, S. A.; COLDITZ, G. A.; ROSNER, B.; SPIEGELMAN, D.; WILLETT, W. C. Fruit and vegetable intake and risk of major chronic disease. *Journal of the National Cancer Institute*, Oxford, v. 96, n. 21, p. 1577-1584, 2004.
- 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.
- MACHADO, T. M. *Antioxidants in post-harvest of Brassica oleracea var. Italica cultivated in organic and conventional systems submitted to sanitization treatments and oxidative enzymes in different varieties of Cichorium intybus L.* 2012. 112 f. Tese (Doutorado em Ciências Biológicas I) – Instituto de Biociências, UNESP - Universidade Estadual “Julio de Mesquita Filho”, Botucatu. 2012.
- MOREIRA, A. V. B.; MANCINI-FILHO, J. Antioxidant activity of mustard, cinnamon and anise in lipidic and aqueous systems. *Nutrire: Revista da Sociedade Brasileira de Alimentação e Nutrição*, São Paulo, v. 25, p. 31-46, 2003.
- MOREIRA, A. V. B.; MANCINI-FILHO, J. Influência dos compostos fenólicos de especiarias sobre a lipoperoxidação e o perfil lipídico de tecidos de ratos. *Revista de Nutrição*, Campinas, v. 17, n. 4, p. 411-424, 2004.
- NICOLI, M. C.; ANESE, M.; PARPINEL, M. Influence of processing on the antioxidant properties of fruit and vegetables. *Trends in Food Science and Technology*, Freising, v. 10, n. 3, p. 94-100, 1999.
- ORMOND, J. G. P.; PAULA, S.; FAVERET FILHO, P.; ROCHA, L. T. *Agricultura orgânica: quando o passado é futuro*. Rio de Janeiro: BNDES, 2002.
- PIETTA, P. G. Flavonoids as antioxidants. *Journal of Natural Products*, Ohio, v. 63, n. 7, p. 1035-142, 2000.
- QUEIROZ, V. A. V.; MORAES, E. A.; SCHAFFERT, R. E.; MOREIRA, A. V.; RIBEIRO, S. M. R.; MARTINO H. S. D. Potencial funcional e tecnologia de processamento do sorgo [*Sorghum bicolor* (L.) Moench], na alimentação humana. *Revista Brasileira de Milho e Sorgo*, Sete Lagoas, v. 10, n. 3, p. 180-195, 2011.
- SELLAPPAN, S.; AKOH, C. C.; KREWER, G. Phenolic compounds and antioxidant capacity of Georgia-grown blueberries and blackberries. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, Easton, v. 50, n. 8, p. 2432-2438, 2002.
- SIDERER, Y.; MAQUET, A.; ANKLAM, E. Need for research to support consumer confidence in the growing organic food market. *Trends in Food Science and Technology*, Freising, v. 16, p. 332-343, 2005.
- SINGLETON, V. L.; ORTHOFER, R.; LAMUELA-RAVENTÓS, R. M. Analysis of total phenols and other oxidation substrates and antioxidants by means of Folin-Ciocalteu reagent. *Methods Enzymologists*, California, v. 299, p. 152-178, 1999.
- STAUB, G. A. *O financiamento do banco do Brasil à agricultura orgânica e preservação ambiental do estado do Paraná*. 2003. 139 f. Dissertação (Mestrado em Engenharia de Produção) - Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis, 2003.
- SULTANA, B.; ANWAR, F.; IQBAL, S. Effect of different cooking methods on the antioxidant activity of some vegetables from Pakistan. *International Journal of Food Science and Technology*, Oxford, v. 43, p. 560-567, 2008.
- TAROZZI, A. S.; HRELIA, C.; ANGELONI, F.; MORRONI, P.; BIAGI, M.; GUARDIGLI, G.; CANTELL-FORTI, P.; HRELIA, P. Antioxidant effectiveness of organically and non-organically grown red oranges in cell culture systems. *European Journal Nutrition*, Heidelberg, v. 45, p. 152-158, 2006.
- USDA - National Nutrient Database for Standard Reference. Department of Agriculture. *Nutrient Data Laboratory*. 2013. Disponível em: <http://www.ars.usda.gov/main/site_main.htm?modecode=80-40-05-25>. Acesso em: 30 jan. 2016.
- VALE, A. P.; SANTOS, J.; BRITO, N. V.; PEIXOTO, V.; CARVALHO, R.; ROSA, E.; OLIVEIRA, M. B. P. P. Light influence in the nutritional composition of *Brassica oleracea* sprouts. *Food Chemistry*, Barking, v. 178, p. 292-300, 2015.

Recebido em: 23 mar. 2016

Aceito em: 15 nov. 2016.