

COMPOSIÇÃO QUÍMICA E ACTIVIDADE ANTIOXIDANTE DAS FOLHAS INTERNAS DA COUVE TRONCHUDA

Pereira, J.A.¹; Sousa, C.²; Ferreres, F.³, Valentão, P.²; Seabra, R.M.²; Andrade, P.B.²

¹ CIMO/Escola Superior Agrária, Instituto Politécnico de Bragança, Campus de Santa Apolónia, Apartado 1172, 5301-855 Bragança, Portugal. jpereira@ipb.pt

² REQUIMTE/Serviço de Farmacognosia, Faculdade de Farmácia da Universidade do Porto, Rua Aníbal Cunha, 164, 4050-047 Porto, Portugal. pandrade@ff.up.pt

³ Research Group on Quality, Safety and Bioactivity of Plant Foods, Dept. Food Science and Technology, CEBAS (CSIC), P.O. Box 164, 30100 Campus Univ. Espinardo, (Murcia) Spain

Palavras-chave: couve tronchuda, compostos fenólicos, ácidos orgânicos, actividade antioxidante.

Resumo: A couve tronchuda (*Brassica oleracea* L. var. *costata* DC) é uma das couves mais consumidas pelos portugueses, especialmente durante o Inverno, apresentando as folhas (internas e externas) diferenças organolépticas marcadas. No presente trabalho procedeu-se à caracterização química das folhas internas de couve tronchuda, através da identificação e quantificação dos compostos fenólicos e dos ácidos orgânicos que as compõem e avaliou-se o seu potencial antioxidante. Foram identificados e quantificados, por HPLC-DAD-ESI-MS e HPLC/DAD, respectivamente, 17 compostos fenólicos: quercetina 3-*O*-soforósido-7-*O*-glucósido, ácido 3-*p*-cumaroilquínico, campferol 3-*O*-soforósido-7-*O*-glucósido, campferol 3-*O*-(cafeoil)-soforósido-7-*O*-glucósido, ácido sinapoilglucósido, campferol 3-*O*-(sinapoil)-soforósido-7-*O*-glucósido, campferol 3-*O*-(feruloil)-soforósido-7-*O*-glucósido, campferol 3-*O*-(*p*-cumaroil)-soforósido-7-*O*-glucósido, ácido 4-*p*-cumaroilquínico, ácido sinápico, campferol 3-*O*-soforósido, 3 isómeros de 1,2-di-sinapoilgentiobiose, 1-sinapoil-2-feruloilgentiobiose, 1,2,2-tri-sinapoilgentiobiose e 1,2'-di-sinapoil-2-feruloilgentiobiose. Foram também identificados e quantificados, por HPLC/UV, sete ácidos orgânicos (ácidos aconítico, cítrico, ascórbico, málico, quínico, chiquímico e fumárico). A actividade antioxidante do extracto aquoso foi aferida pela capacidade para interceptar o radical DPPH e espécies reactivas de oxigénio (radicais superóxido e hidroxilo e ácido hipocloroso), tendo revelado grande efeito protector.

1. INTRODUÇÃO

As espécies do género *Brassica* são dos vegetais mais consumidos no mundo. A sua riqueza em substâncias antioxidantes, vitaminas, minerais e fibra fazem com que desempenhem um papel importante na nutrição humana.

A couve tronchuda (*Brassica oleracea* L. var. *costata* DC) é uma couve muito consumida em Portugal, particularmente nos períodos de Outono-Inverno. A fracção fenólica das folhas externas foi recentemente caracterizada por este grupo de investigação [1], tendo sido também demonstrado seu potencial antioxidante [2]. A caracterização fitoquímica e a actividade biológica das sementes foram também já descritas [3], bem como a influência do sistema de produção, biológico e convencional, na sua composição química [4].

Neste trabalho procedeu-se à caracterização fitoquímica das folhas internas de couve tronchuda, através da identificação e quantificação dos compostos fenólicos e dos ácidos orgânicos que as compõem, e avaliou-se o seu potencial antioxidante.

2. MATERIAL E MÉTODOS

As amostras de couve tronchuda foram produzidas sob o modo de produção biológico, na região de Mirandela. Para a caracterização dos compostos fenólicos preparou-se um extracto hidrometanólico [5]. Os ensaios de actividade antioxidante foram realizados com um extracto aquoso, no qual foi feita a quantificação dos diversos compostos [5].

A identificação e quantificação de compostos fenólicos foram efectuadas conforme o descrito por Ferreres *et al.* [5]: os compostos foram identificados por HPLC-DAD-ESI-MSⁿ e quantificados por HPLC-DAD.

A identificação e quantificação de ácidos orgânicos foi feita por HPLC-UV, de acordo com Ferreres *et al.* [5].

A actividade antioxidante foi avaliada através de ensaios de intercepção dos radicais DPPH, superóxido e hidroxilo e do ácido hipocloroso [5].

3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

A análise por HPLC-DAD-ESI-MSⁿ das folhas internas de couve tronchuda mostrou a existência de 17 compostos fenólicos (Figura 1). O teor de compostos fenólicos no extracto aquoso foi de aproximadamente 1,4 g/kg (Tabela 1), sendo o campferol 3-*O*-soforósido-7-*O*-glucósido (**3**) o composto maioritário (cerca de 21% do total de compostos), seguido do ácido 3-*p*-cumaroilquinico (**2**) (14% do total de compostos, aproximadamente). A 1,2'-dinapoiil-2-feruloilgentiobiose (**16**) é o composto presente em menor concentração (cerca de 1% do total de compostos).

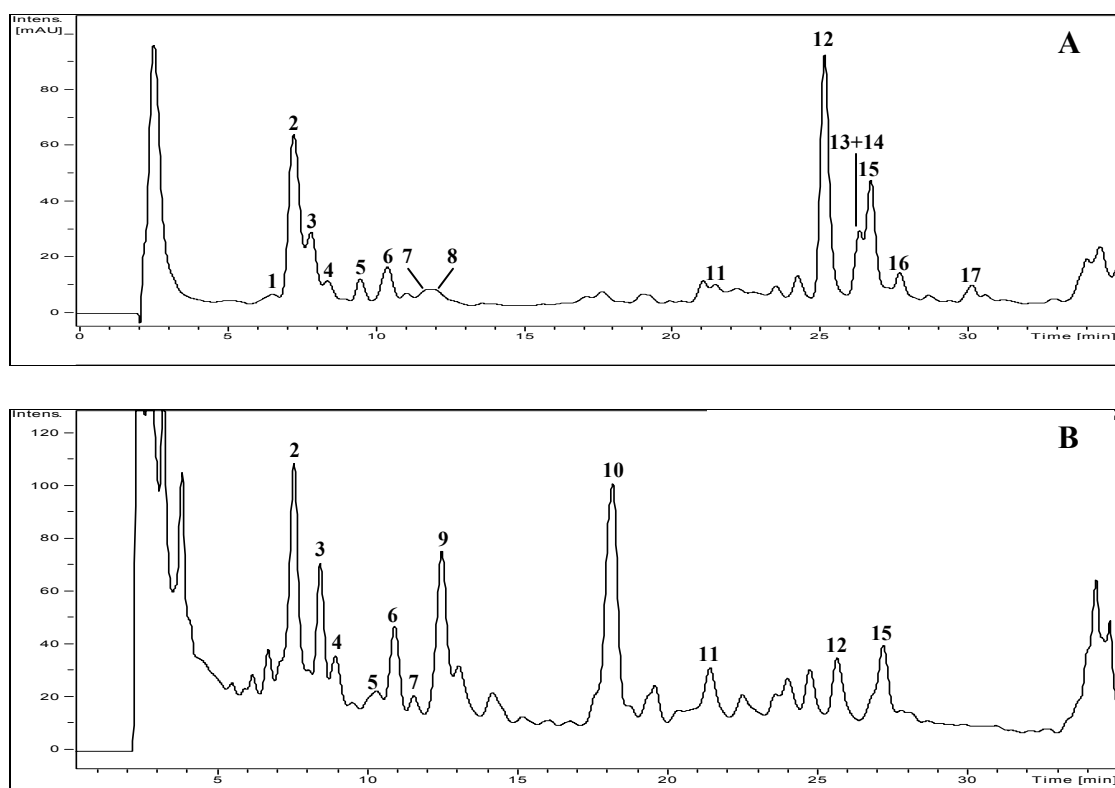


Figura 1 – Perfil fenólico das folhas internas de couve tronchuda obtido por HPLC-DAD com extracto hidrometanólico (A) e aquoso (B). Detecção a 330 nm. Identidade dos compostos de acordo com a Tabela 1.

Tabela 1. Composição fenólica das folhas internas de couve tronchuda (mg kg⁻¹)^a

Composto fenólico		Média	d.p.
1	Quercetina 3- <i>O</i> -soforósido-7- <i>O</i> -glucósido	nd	
2	Ácido 3- <i>p</i> -cumaroilquínico	189,0	1,4
3	Campferol 3- <i>O</i> -soforósido-7- <i>O</i> -glucósido	287,8	8,8
4	Campferol 3-(cafeoil)-soforósido-7- <i>O</i> -glucósido	120,5	3,7
5	Ácido sinapoilglucósido	25,7	0,2
6	Campferol 3-(sinapoil)-soforósido-7- <i>O</i> -glucósido	180,7	5,5
7	Campferol 3-(feruloil)-soforósido-7- <i>O</i> -glucósido	53,6	1,6
8	Campferol 3-(<i>p</i> -cumaroil)-soforósido-7- <i>O</i> -glucósido	nd	
9	Ácido 4- <i>p</i> -cumaroilquínico	126,0	0,9
10	Ácido sinápico	180,1	1,1
11	Campferol 3- <i>O</i> -soforósido	100,4	3,1
12	1,2-di-Sinapoilgentiobiose	51,5	0,3
13	1-Sinapoil-2-feruloilgentiobiose	nd	
14	Isómero de 1,2-di-sinapoilgentiobiose	nd	
15	1,2,2'-tri-Sinapoilgentiobiose	62,9	0,4
16	1-2'-di-Sinapoil-2-feruloilgentiobiose	11,4	0,1
17	Isómero de 1,2-di-sinapoilgentiobiose	nd	
		Σ 1389,6	

^a Os resultados são a média de três determinações. d.p. - desvio padrão, Σ - soma dos compostos fenólicos determinados.

As folhas internas de couve tronchuda apresentaram um perfil em ácidos orgânicos com sete compostos identificados: ácidos aconítico, cítrico, ascórbico, málico, quínico, chiquímico e fumárico (Figura 2). O extracto analisado revelou possuir um elevado teor em ácidos orgânicos (cerca de 23 g/kg de extracto liofilizado), sendo o ácido cítrico o ácido orgânico mais abundante (43% do total de ácidos, aproximadamente), seguido do par ácido málico/ácido quínico (cerca de 28% do total de compostos) (Tabela 2).

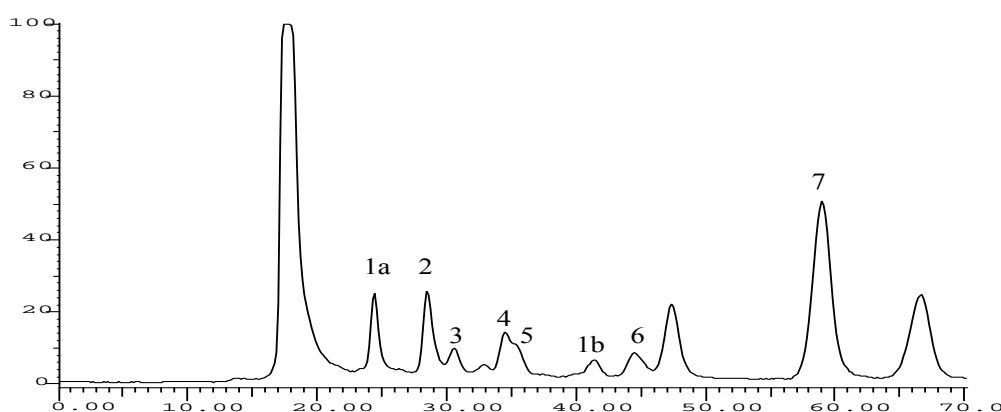


Figura 2 – Perfil em ácidos orgânicos do extracto aquoso das folhas internas de couve tronchuda obtido por HPLC-UV. Detecção a 214 nm. Identidade dos compostos de acordo com a Tabela 2.

Tabela 2. Ácidos orgânicos de folhas internas da couve tronchuda (mg kg⁻¹)^a

Ácido orgânico		Mean	SD
1	Aconítico	191,1	3,7

2	Cítrico	9974,6	68,2
3	Ascórbico	6020,1	143,4
4 + 5	Málico + Quínico	6626,4	164,8
6	Chiquímico	35,0	1,0
7	Fumárico	407,6	1,8
	Σ	23254,8	

^a Os resultados são a média de três determinações. d.p. - desvio padrão, Σ - soma dos ácidos orgânicos determinados.

No que respeita à actividade antioxidante, o extracto aquoso das folhas internas de couve tronchuda demonstrou capacidade para interceptar o radical DPPH, de modo dependente da concentração ($IC_{25} = 1192 \mu\text{g/ml}$).

O extracto interceptou o radical superóxido gerado num sistema enzimático contendo xantina oxidase, sendo esse efeito dependente da concentração ($IC_{50} = 351 \mu\text{g/ml}$). Adicionalmente, apresentou alguma capacidade para inibir esta enzima ($IC_{10} = 273 \mu\text{g/ml}$). A capacidade para interceptar o radical superóxido foi confirmada quando este radical foi gerado por um sistema químico ($IC_{25} = 101 \mu\text{g/ml}$). Assim, a actividade exibida pelo extracto de folhas internas no ensaio enzimático deve-se à capacidade para interceptar o radical superóxido e para inibir a xantina oxidase.

As folhas internas de couve tronchuda revelaram uma potente capacidade para interceptar o radical hidroxilo gerado num sistema de Fenton, de modo dependente da concentração ($IC_{25} = 27 \mu\text{g/ml}$). No ensaio realizado sem ácido ascórbico não demonstraram efeito pró-oxidante. Adicionalmente, no ensaio realizado sem EDTA observou-se uma fraca capacidade para quelatar o ferro.

Relativamente ao dano causado pelo ácido hipocloroso o extracto aquoso de folhas internas revelou uma actividade protectora reduzida.

Os resultados obtidos mostram que as folhas internas da couve tronchuda podem constituir uma fonte de compostos, nomeadamente flavonóides e ácidos orgânicos, com acção benéfica na saúde humana. Os extractos delas obtidos possuem grande poder antioxidante, sugerindo que o consumo de couve tronchuda pode ser importante ao nível da prevenção de doenças que envolvam radicais livres.

Agradecimentos

Trabalho financiado pela Fundação para a Ciência e a Tecnologia (Projecto POCI/AGR/57399/2004).

Referencias

- [1] – Ferreres, F.; Valentão, P.; Llorach, R.; Pinheiro, C.; Cardoso, L.; Pereira, J. A.; Seabra, R.M., Andrade, P. – *J. Agric. Food Chem.*, **53** (2005) 2901-2907.
- [2] – Vrchovska, V.; Sousa, C.; Valentão, P.; Ferreres, F.; Pereira, J. A.; Seabra, R.M.; Andrade P. B. - *Food Chem.* **98** (2006) 416-425.
- [3] – Ferreres, F.; Sousa, C.; Valentão, P.; Seabra, R.M.; Pereira, J. A.; Andrade, P.B. - *Food Chem.* **101** (2007) 549-558.
- [4] – Sousa, C.; Valentão, P.; Rangel, J.; Lopes, G.; Pereira, J. A.; Ferreres, F.; Seabra, R.M.; Andrade P. B. – *J. Agric. Food Chem.* **53** (2005) 9128-9132.
- [5] – Ferreres, F.; Sousa, C.; Vrchovska, V.; Valentão, P.; Pereira, J. A.; Seabra, R.M.; Andrade P. B. – *Eur. Food Res. Technol.* **222** (2006) 88-98.