

## CATEQUINA E EPICATEQUINA EM MORANGOS: DIMINUIÇÃO DURANTE O CRESCIMENTO E DESENVOLVIMENTO

PEDRO LOPES REISSER<sup>1</sup>; TATIANE JESSICA SIEBENEICHLER<sup>2</sup>; ROSANE CRIZEL<sup>2</sup>; CESAR VALMOR ROMBALDI<sup>3</sup>; VANESSA GALLI<sup>3</sup>

<sup>1</sup>*Universidade Federal de Pelotas- reisser.pedro@gmail.com*

<sup>2</sup> *Universidade Federal de Pelotas – tatijs1@hotmail.com; rosanecrizel@gmail.com*

<sup>3</sup> *Universidade Federal de Pelotas – cesarvrf@ufpel.edu.br; vane.galli@yahoo.com.br*

### 1. INTRODUÇÃO

O moranguero (*Fragaria x ananassa* Duch.) produz um pseudofruto, o morango, doravante denominado de fruto. O fruto verdadeiro é representado pelos pequenos aquénios distribuídos sobre a cobertura da fruta (parte carnosa e doce). Esta fruta é apreciada pelo sabor, aroma e coloração e, além disso, é um modelo de pesquisa para frutas não climatéricas (VOGT, 2010).

O evento de amadurecimento tem como característica marcante a troca de coloração verde para vermelha, devido ao aumento da síntese e acúmulo de compostos da rota de fenilpropanoides, particularmente antocianinas, através da rota de flavonoides (PERKINS-VEAZIE, 1995).

Os flavonoides são uma grande família de metabólitos secundários originados através da rota de fenilpropanoides; são compostos responsáveis por diversas funções em plantas (VIGHI *et al.*, 2019). Um dos subgrupos de flavonóides, são os flavanóis ou catequinas (PANCHE; DIWAN; CHANDRA, 2016). Estudos recentes, tanto *in vitro* quanto *in vivo*, tem mostrado que, em especial a catequina e a epicatequina, são fortes antioxidantes (XIAO *et al.*, 2011), com potencial de redução de risco de doenças cardiovasculares (RUIDAVETS *et al.*, 2000), de ação antitumoral (CHENG *et al.*, 2020) e, também, de redução da lipoproteína de baixa densidade (LDL) (MEYER; HEINONEN; FRANKEL, 1998).

As catequinas possuem sabor amargo e adstringente (NARUKAWA *et al.*, 2011) e, geralmente, são encontradas glicosiladas. Apesar de serem bem estudadas em diversas espécies, o papel que desempenham no crescimento e desenvolvimento de morangos ainda não está bem compreendido. As catequinas são ramificações *upstream* da rota de antocianinas, moléculas que colorem os morangos e que apresentam a síntese aumentada nos estádios finais do desenvolvimento (PERKINS-VEAZIE, 1995). Frente ao exposto, levantou-se a hipótese de que os níveis de catequinas reduzem ao longo do desenvolvimento da fruta, uma vez que são derivações que competem pelo substrato das antocianinas.

### 2. MATERIAS E MÉTODOS

#### 2.1 Coleta do material

Os morangos, cultivar San Andreas, foram colhidos em propriedade rural, no município de Capão do Leão/RS. Foram definidos 9 estádios de maturação. Em cada estádio, foram feitas três coletas, cada uma composta por oito morangos. Os estádios foram definidos através de revisão bibliográfica e foram projetados para abranger a vida máxima do morango na planta. Foram divididos em estádios iniciais: I1, I2, I3; estágios de crescimento: C1, C2, C3; e, estágios de amadurecimento: A1, A2, A3 (Figura 1). As amostras foram colhidas, os frutos selecionados e imediatamente congelados em nitrogênio líquido e estocadas a -80°C.



Figura 1-Estadios iniciais (I), crescimento (C) e amadurecimento (A) dos morangos

## 2.2 Preparo dos extratos e parâmetros de injeção

A extração, identificação e quantificação das catequinas foram realizadas de acordo com SIEBENEICHLER *et al.* (2020). Para isso, pesaram-se 100 mg de morango liofilizado em microtubos de 2 mL. Adicionou-se às amostras 1 mL de uma solução de metanol e água (3:1; acidificada com 0,1% de ácido fórmico). A mistura foi agitada em vortex por 1 min. Os extratos foram sonicados por 15 min. Em seguida, o extrato foi centrifugado a 9900 x g por 15 min. Coletou-se o sobrenadante e realizou-se uma re-extração do resíduo. Os sobrenadantes foram misturados e filtrou-se com membrana de PVDF (0,22  $\mu$ M) sendo transferido para vials e armazenados em ultrafreezer (- 80°C) até o momento das análises.

Foram injetados 10  $\mu$ L de extrato em cromatógrafo, via cromatografia líquida de ultra-alta eficiência (UFLC, Shimadzu, Japão), num equipamento acoplado a espectrômetro de massas de alta resolução (tipo quadrupolo-tempo de vôo) (Maxis Impact, Bruker Daltonics, Bremen, Germany). Para a separação dos compostos foi utilizada uma coluna Hyperclone ODS C18 (Phenomenex, CA, USA), utilizando solução de água com 0,1 % de ácido fórmico (eluente A) e acetonitrila acidificada com 0,1 % de ácido fórmico (eluente B), como fase móvel. O equipamento foi calibrado com formiato de sódio 10 mM. Para o processamento dos dados de MS e MS/MS foi utilizado o software Data analysis 4.0 (Bruker Daltonics, Bremen, Alemanha).

## 3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

As catequinas foram identificadas e quantificadas por HPLC MS/MS (Figura 2). Ao longo do desenvolvimento do morango o teor de (+)-catequina apresentou decréscimo de 73%, reduzindo de 1558  $\mu$ gg<sup>-1</sup> até 425  $\mu$ gg<sup>-1</sup>. Já, o teor de (+)-epicatequina variou de 35  $\mu$ gg<sup>-1</sup> (estádio I1) a 4,4  $\mu$ gg<sup>-1</sup> (estádio A3), representando uma redução de 87% (Figura 2). AABY *et al.* (2012), realizaram a caracterização de 27 cultivares, e obtiveram uma média de catequina no último estádio de 45  $\mu$ gg<sup>-1</sup>, em base úmida. Em pepinos, também foi observado maior concentração de catequinas no estádio verde (XU *et al.*, 2019). Uma explicação possível é como agente de defesa, em folhas de morangueiro, as catequinas agem como fator inibitório de infecções fúngicas (YAMAMOTO *et al.*, 2000), assim podendo ocorrer o mesmo na fruta. Outra explicação que se pode dar é a competição que pelo substrato das antocianinas a fim de que não ocorra a troca de coloração antes da formação completa dos aquêniros. GALLI e colaboradores, 2016 mostraram que morangos sobre estresse tiveram aumento no teor de catequinas. O estudo também mostra que morangos sob estresse induzido por excesso de sal tiveram amadurecimento precoce e aumento de catequinas, o que pode estar relacionado com a propriedade de defesa desse composto e não propriamente como desvio da rota antes da maturação.

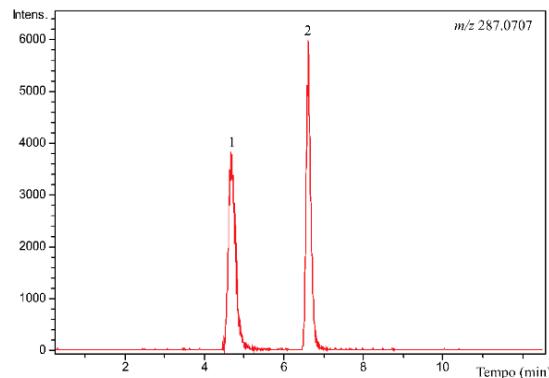


Figura 2- Cromatograma de (+)-catequina (1) e (+)-epicatequina (2) obtido por HPLC MS/MS

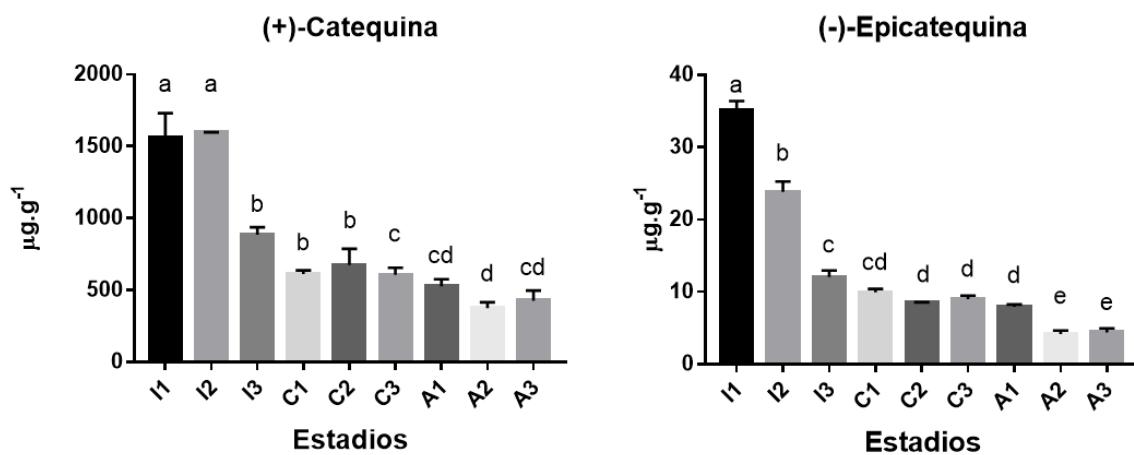


Figura 2 - Teores de Catequina e Epicatequina, estádios iniciais (I), estádios de crescimento (C), estádios de amadurecimento (A)

#### 4. CONCLUSÕES

A hipótese emitida é provavelmente verdadeira, ou seja, as catequinas têm suas concentrações diminuídas durante o crescimento e desenvolvimento. No entanto, as análises aqui realizadas e os resultados obtidos não são suficientes para afirmar que isso se deve à disponibilidade de substrato as antocianinas o seu acúmulo. Afora isso, quando se analisaram os morangos, utilizaram-se os pseudofrutos inteiros, ou seja, a polpa e os aquêniros. Então, não se tem o detalhamento do que ocorre na polpa e nos aquêniros, de modo individualizado.

#### 5. AGRADECIMENTOS

O presente trabalho foi realizado com apoio do Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq) e da Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior - Brasil (CAPES), através de bolsa de mestrado e recursos do Programa de Apoio à Pós-Graduação (PROAP).

#### 6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

AABY, Kjersti *et al.* Phenolic compounds in strawberry (*Fragaria x ananassa* Duch.) fruits: Composition in 27 cultivars and changes during ripening. **Food Chemistry**, [S. I.], v. 132, n. 1, p. 86–97, 2012. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2011.10.037>

CHENG, Zhe *et al.* A review on anti-cancer effect of green tea catechins. **Journal of Functional Foods**, [S. I.], v. 74, n. April, p. 104172, 2020. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.jff.2020.104172>

GALLI, Vanessa *et al.* Mild salt stress improves strawberry fruit quality. **LWT - Food Science and Technology**, [S. I.], v. 73, p. 693–699, 2016. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2016.07.001>

MEYER, Anne S.; HEINONEN, Marina; FRANKEL, Edwin N. Antioxidant interactions of catechin, cyanidin, caffeic acid, quercetin, and ellagic acid on human LDL oxidation. **Food Chemistry**, [S. I.], v. 61, n. 1–2, p. 71–75, 1998. Disponível em: [https://doi.org/10.1016/S0308-8146\(97\)00100-3](https://doi.org/10.1016/S0308-8146(97)00100-3)

NARUKAWA, Masataka *et al.* Evaluation of the bitterness of green tea catechins by a cell-based assay with the human bitter taste receptor hTAS2R39. **Biochemical and Biophysical Research Communications**, [S. I.], v. 405, n. 4, p. 620–625, 2011. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.bbrc.2011.01.079>

PANCHE, A. N.; DIWAN, A. D.; CHANDRA, S. R. Flavonoids: An overview. **Journal of Nutritional Science**, [S. I.], v. 5, 2016. Disponível em: <https://doi.org/10.1017/jns.2016.41>

PERKINS-VEAZIE, P. Growth and Ripening of Strawberry Fruit. In: **Horticultural Reviews**. Oxford, UK: John Wiley & Sons, Inc., 1995. v. 17p. 267–297. E-book. Disponível em: <https://doi.org/10.1002/9780470650585.ch8>

RUIDAVETS, Jean Bernard *et al.* Catechin in the Mediterranean diet: Vegetable, fruit or wine? **Atherosclerosis**, [S. I.], v. 153, n. 1, p. 107–117, 2000. Disponível em: [https://doi.org/10.1016/S0021-9150\(00\)00377-4](https://doi.org/10.1016/S0021-9150(00)00377-4)

SIEBENEICHLER, Tatiane Jéssica *et al.* The postharvest ripening of strawberry fruits induced by abscisic acid and sucrose differs from their in vivo ripening. **Food Chemistry**, [S. I.], v. 317, n. February, p. 126407, 2020. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2020.126407>

VIGHI, I. L. *et al.* Crosstalk During Fruit Ripening and Stress Response Among Abscisic Acid, Calcium-Dependent Protein Kinase and Phenylpropanoid. **Critical Reviews in Plant Sciences**, [S. I.], v. 38, n. 2, p. 99–116, 2019. Disponível em: <https://doi.org/10.1080/07352689.2019.1602959>

VOGT, Thomas. Phenylpropanoid Biosynthesis. **Molecular Plant**, [S. I.], v. 3, n. 1, p. 2–20, 2010. Disponível em: <https://doi.org/10.1093/mp/ssp106>

XIAO, Z. P. *et al.* Flavonoids Health Benefits and Their Molecular Mechanism. **Mini-Reviews in Medicinal Chemistry**, [S. I.], v. 11, n. 2, p. 169–177, 2011. Disponível em: <https://doi.org/10.2174/138955711794519546>

XU, Xuewen *et al.* Changes in catechin contents and expression of catechin biosynthesis-associated genes during early cucumber fruit development. **Acta Physiologiae Plantarum**, [S. I.], v. 41, n. 8, p. 1–9, 2019. Disponível em: <https://doi.org/10.1007/s11738-019-2925-7>

YAMAMOTO, M. *et al.* (+)-Catechin acts as an infection-inhibiting factor in strawberry leaf. **Phytopathology**, [S. I.], v. 90, n. 6, p. 595–600, 2000. Disponível em: <https://doi.org/10.1094/PHYTO.2000.90.6.595>