

## **12080 - Variedades de milhos crioulos cultivados e desenvolvidos por agricultores familiares do oeste de Santa Catarina como fonte de compostos antioxidantes**

*Maize local varieties cultivated and development by small farmers from Santa Catarina Western as source of antioxidant compounds*

OLIVEIRA, P.R.<sup>1</sup>; SBRUZZI, B.<sup>1</sup>; MARASCHIN, M.<sup>2</sup>; KUHNEN, S.<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Universidade Federal de Santa Catarina, Depto. de Zootecnia e Des. Rural, CCA, Lab. de Morfogenese e Bioquímica Vegetal, [shirley@cca.ufsc.br](mailto:shirley@cca.ufsc.br); <sup>2</sup> Universidade Federal de Santa Catarina, Depto. de Fitotecnia, CCA, Lab. de Morfogenese e Bioquímica Vegetal, [m2@cca.ufsc.br](mailto:m2@cca.ufsc.br);

**Resumo:** A investigação do potencial de variedades crioulas de milho (VCM), cultivadas por agricultores familiares do Oeste de SC, como fonte de compostos antioxidantes, está entre as estratégias que visam agregar valor as matérias-primas e/ou derivados. Sendo assim, o presente trabalho teve como objetivo determinar os teores de carotenóides e antocianinas de 7 VCM comercializadas em 2011 naquela região. Para carotenóides totais foi observado uma amplitude de valores (124,26 a 498,44 µg/100g), tendo sido os maiores teores detectados nas farinhas de Mato Grosso Palha Roxa e Pintado. Um conteúdo médio 5 vezes superior de antocianinas (10,15 mg/100g) quando comparado ao das demais foi encontrado na farinha da variedade Língua de Papagaio. A existência desses compostos, os quais possuem ação antioxidante, reforça o uso das VCM como alimento funcional. Contudo, é importante destacar que a seleção e o manejo podem alterar de forma marcante o conteúdo dos mesmos, o que pode ser evidenciado pela comparação dos resultados encontrados com estudos prévios. Tais variações deverão ser consideradas quando for de interesse produzir alimentos locais ricos em compostos antioxidantes.

**Palavras-Chave:** milho crioulo, agrobiodiversidade, carotenóides, antocianinas, alimento funcional

**Abstract:** The investigation of the potential of landraces maize (LM) cultivated by farming families of the western SC as source of anti-oxidative compounds is among the strategies that aim at aggregating value to raw material and/or derivatives. Thus, the present aim is to determine the content of carotenoids and anthocyanins of 7 LM commercialized in 2011 in that region. For total carotenoids, it was observed a range of values (124.26 at 498.44 µg/100g) and the highest contents were detected in the flours of Mato Grosso Palha Roxa e Pintado. An average content 5 times superior of anthocyanins (10.15 mg/100g) when compared to the others was found in the Língua de Papagaio flour. The existence of these compounds, which have anti-oxidative action, reinforces the use of LMs as functional food. However, it is important to affirm that the selection and handling may significantly alter their content, which can be shown by comparing the results found with former studies. Such variations must be considered when it becomes interesting to produce local food rich in anti-oxidative compounds.

**Key Words:** maize local varieties, agrobiodiversity, carotenoids, anthocyanins, functional foods

### **Introdução**

O milho vem sendo sugerido como alimento funcional por conter compostos benéficos à saúde humana, especialmente àqueles pertencentes ao metabolismo secundário. Diversos estudos e evidências sugerem uma relação inversa entre o consumo desses compostos bioativos de origem vegetal e a incidência de doenças degenerativas em humanos. De fato, a preocupação com a ingestão de alimentos que possam trazer benefícios à saúde é um tema de grande interesse e repercussão, baseada no aumento expressivo de casos de doenças cardiovasculares e câncer atribuídos aos hábitos alimentares inadequados.

Dentre os compostos bioativos existentes nos grãos do milho estão os carotenóides e as antocianinas, podendo existir, entre as variedades, diferenças qualitativas e quantitativas (Hulshof et al., 2006; Kuhnen, 2011). Os carotenóides são pigmentos amplamente distribuídos na natureza, responsáveis pela coloração de diversos alimentos, variando do amarelo ao vermelho. Os carotenóides majoritários do milho são zeaxantina e luteína, que embora não possuam atividade pró-vitamina A, desempenham funções biológicas importantes, tais como o bloqueio do crescimento de tumores, o aumento da função imune, a proteção contra a degeneração macular relacionada à idade e ação antioxidante (Chew et al., 2003; Ahmed et al., 2005). As antocianinas, por sua vez, compreendem um grupo de pigmentos pertencentes à classe dos flavonóides, também responsáveis pela coloração de frutas, flores e folhas variando do vermelho ao violeta e azul (Escribano-Bailón et al., 2004). Dentre as atividades biológicas atribuídas a esses compostos estão a anti-mutagênica, anti-carcinogênica, antioxidante e anti-inflamatória (Cevallos-Casals & Cisneros-Zevallos, 2003). O milho roxo no Peru, por exemplo, é amplamente utilizado na fabricação de “Chicha Morada”, uma bebida local bastante popular e com reconhecidos benefícios à saúde humana (Brack-Egg, 1999).

No sul do Brasil, e mais especificamente na região extremo oeste do Estado de Santa Catarina, alguns municípios – Anchieta, Guaraciaba, Novo Horizonte – têm no milho uma cultura de grande importância econômica e sócio-cultural. Cerca de 26 variedades crioulas com características distintas, como variações na coloração dos grãos (brancos, amarelos, vermelhos e roxos) foram resgatadas e caracterizadas na safra 2003/2004 (Kuhnen, 2007; Kuhnen et al., 2011). Tendo em vista o diagnóstico do potencial das variedades crioulas como fonte de compostos de interesse à saúde humana, o presente estudo teve como objetivo avaliar as variedades crioulas comercializadas em feiras como produto da agricultura familiar, bem como comparar os teores dos metabólitos secundários com àqueles encontrados previamente no Oeste de Santa Catarina.

## **Metodologia**

As variedades crioulas de milho MPA1, Pintado, Rajado 8 Carreiras, Mato Grosso Palha Roxa, Asteca, Roxo e Língua de Papagaio foram adquiridas em feiras de produtos da agricultura familiar no Oeste de SC ou diretamente com os produtores no ano de 2011. As amostras dos grãos inteiros foram trituradas (50g) em moinho (Willey EDB-5- 0,1 mm) e acondicionados a -20°C para posterior análise. Para determinação dos teores de carotenóides, adicionou-se 2 volumes de solução de hexano:acetona (v/v), contendo 100 mg/L de hidroxitolueno butilado (BHT) a 1 g (peso seco) da amostra

de grãos inteiros de cada variedade. As mesmas foram mantidas sob agitação por 30 minutos, filtradas sob vácuo, centrifugadas por 10 minutos (5.000 rpm) e o solvente evaporado em fluxo de nitrogênio. O extrato concentrado foi ressuspensão em 3 mL de hexano, lavado com 9 mL de água destilada-deionizada (3x) e, posteriormente, submetido à espectrofotometria UV-visível (BEL Photonics) para a determinação do teor de carotenóides, através da leitura da absorbância a 450 nm. A concentração de carotenóides totais foi calculada usando a fórmula de Lambert-Beer, utilizando-se o coeficiente de extinção molar ( $A_{1\text{ cm}}^1 = 2550$ ) conforme previamente descrito por Britton (1982).

As antocianinas de amostras de grãos inteiros (1 g, peso fresco) das variedades Roxo, Pintado e Língua de Papagaio (grãos com elevado grau de pigmentação) foram extraídas com metanol-HCl 1% (v/v, 1 hora, 48 horas ou 7 dias) (10 mL). Os extratos organosolventes foram recuperados por filtração sob vácuo e caracterizados através de espectrofotometria de varredura UV-visível (200 a 750 nm). O conteúdo de antocianinas foi determinado através da leitura da absorbância em 525 nm - ( $\epsilon = 34300$  M $\cdot$ cm $^{-1}$  e peso molecular de 449,2 g $\cdot$ mol $^{-1}$ ) (Giusti & Wrolstad, 2001). Todas as análises foram realizadas em triplicata.

## Resultados e Discussão

As antocianinas, pigmentos responsáveis pela coloração azul, vermelha, violeta e púrpura de vários tecidos vegetais têm despertado o interesse pela sua comprovada atividade antioxidante, além de serem potenciais substitutos de corantes sintéticos (Cevallos-Casals & Cisneros-Zevallos, 2003). O uso de variedades de milho roxo dos Andes peruanos como corantes naturais vêm sendo investigado, sendo escassos trabalhos dessa natureza para o germoplasma brasileiro, apesar do potencial que algumas variedades possuem, dada à intensa pigmentação de seus grãos (Cevallos-Casals & Cisneros-Zevallos, 2003; Escribano-Bailón et al., 2004; Cortés et al., 2006). No presente estudo, o solvente metanol-HCl (1%, v/v) e 3 diferentes tempos foram testados quanto à eficiência para a extração de antocianinas (Tabela 1). Com relação ao tempo ótimo para extração, os resultados encontrados foram contraditórios. Enquanto o período de 7 dias mostrou-se mais eficiente para o genótipo Roxo, o contrário foi observado para a variedade Pintado. Os teores de antocianinas variaram de 1,99 a 12,82 mg de equivalente de cianidina-3-glucosídeo/100g de farinha, sendo inferiores ao obtido em estudo prévio. Anteriormente, foram encontrados 54, 60 e 245 mg de equivalente de cianidina-3-glucosídeo/100g de farinha, utilizando o mesmo solvente, nas farinhas das variedades Roxo 29, Roxo 41 e Língua de Papagaio, respectivamente (Kuhnen et al., 2011).

**TABELA 1** – Concentração média\* de antocianinas totais (média  $\pm$  desvio padrão) das farinhas das variedades crioulas, do Oeste de Santa Catarina, com grãos pigmentados, determinada por espectrofotometria UV-visível (525nm) no extrato metanol-HCl (1%, v/v) usando diferentes tempos de incubação.

<b>Variedades</b>	<b>Antocianinas (mg/100g)</b>		
	<b>1 hora</b>	<b>48 horas</b>	<b>7 dias</b>
Língua de Papagaio	10,15 $\pm$ 0,80	12,82 $\pm$ 0,90	9,42 $\pm$ 0,46
Pintado	2,39 $\pm$ 0,62	2,14 $\pm$ 1,47	0,65 $\pm$ 0,07
Roxo	0,49 $\pm$ 0,04	0,86 $\pm$ 0,14	1,99 $\pm$ 0,11

\* Média de 3 extrações independentes

Apesar dos conteúdos inferiores quando comparado aos genótipos estudados anteriormente, a presença de antocianinas na ordem de miligramas caracteriza tais farinhas como alimento funcional, tendo em vista as reconhecidas propriedades benéficas desses compostos à saúde humana. De fato, a comunidade local faz uso dessas variedades pigmentadas para a produção de polenta, inclusive comercializando farinhas monovarietais em feiras de produtos da agricultura familiar.

Os valores de conteúdo médio de carotenóides totais, determinados por espectrofotometria UV-visível, para 7 variedades crioulas, incluindo as variedades com grãos roxos, estão apresentados na Tabela 2. Os maiores conteúdos detectados foram 498,44, 369,97 e 374,41  $\mu$ g/100g para as variedades Mato Grosso Palha Roxa, MPA1 e Pintado, respectivamente. Dentre essas, é importante destacar o potencial da variedade Língua de Papagaio como alimento funcional por apresentar ambos os metabólitos secundários em quantidades apreciáveis. Contudo tomando-se como referência o conteúdo médio de 1.086  $\mu$ g/100g de carotenóides totais detectado previamente para a variedade MPA1, as variedades crioulas revelaram, no presente estudo, menor potencial como fonte desses compostos (Kuhnen et al., 2011). Para a própria variedade MPA1 obteve-se um rendimento 65% inferior quando comparado ao estudo anterior.

**TABELA 2** – Concentração média\* de carotenóides totais (média  $\pm$  desvio padrão) determinada por espectrofotometria UV-visível (450nm) das farinhas dos grãos das variedades crioulas do Oeste de Santa Catarina.

<b>Variedades</b>	<b>Carotenóides (<math>\mu</math>g/100g)</b>
Asteca	276,94 $\pm$ 52,97
Língua de Papagaio	328,23 $\pm$ 9,98
Mato Grosso Palha Roxa	498,44 $\pm$ 74,23
MPA1	374,41 $\pm$ 45,66
Pintado	369,97 $\pm$ 62,91
Rajado 8 Carreiras	124,26 $\pm$ 18,24
Roxo	167,87 $\pm$ 18,60

\* Média de 3 extrações independentes

Esses resultados demonstram a existência de flutuações temporais marcantes no que diz respeito ao conteúdo de metabólitos secundários de interesse, o que deve ser resultado da própria seleção realizada pelos agricultores, ao longo dos anos de cultivo, e pelas

pressões de seleções impostas pelo ambiente.

Em conjunto, nossos resultados mostram que entre as variedades crioulas de milho existem diferenças quantitativas entre as classes de metabólitos secundários, inerentes ao genótipo, ao processo de seleção e possivelmente ao manejo utilizado. Pelo maior conteúdo de metabólitos secundários de interesse alguns genótipos possuem maior potencial para produção de alimentos funcionais pela comunidade local, o que deverá agregar valor aos produtos comercializados, devendo-se levar em consideração as flutuações temporais diagnosticadas no presente estudo.

## Bibliografia

AHMED,S.S.; LOTT,M.N.; MARCUS,D.M, The macular xanthophylls. **Surv. Ophthalmol.**, v. 50, p.183–193, 2005.

BRACK-EGG,A. *Zea mays* L. In: **Diccionario Enciclopédico de Plantas Útiles del Perú**, Cuzco, Peru: Imprenta del Centro Bartolomé de las Casas, p.537-538, 1999.

BRITTON,G. UV-visible spectroscopy. In: BRITTON,G.; LIAAEN-JENSEN,S.; PFANDER,H. (Eds.). **Carotenoids**. Birkhauser Verlag, Basel, Switzerland, v. 1B, p. 13-62, 1982.

CEVALLOS-CASALS,B.A.; CISNEROS-ZEVALLOS,L. Stoichiometric and kinetic studies of phenolic antioxidants from Andean purple corn and ref-fleshed sweet-potato. **J. Agr. Food Chem.**, v. 51, p. 3313-3319, 2003.

CHEW,B.P.; BROWN,C.M.; PARK,J.S.; MIXTER,P.F. Dietary lutein inhibits mouse mammary tumor growth by regulating angiogenesis and apoptosis. **Anticancer Res.**, v. 23, p. 3333-39, 2003.

CORTÉS,G.A.; SALINAS,M.Y.; MARTÍN-MARTINEZ,E.; MARTÍNEZ-BUSTOS, F. Stability of anthocyanins of blue maize (*Zea mays* L.) after nixtamalization of separated pericarp-germ tip cap and endosperm fractions. **J. Cereal Sci.**, v. 43, p. 57–62, 2006.

ESCRIBANO-BAILÓN,M.T.; SANTOS-BUELGA,C.; RIVAS-GONZALO,J.C.R; Anthocyanins in cereals. **J. Chromatogr A**, v. 1054, p.129-141, 2004.

GIUSTI,M.M.; WORSLTAD,R.E. Characterization and measurement of anthocyanins by UV – visible spectroscopy. In: **Current Protocols in Food Analytical Chemistry**. John Wiley, New York, p. F1.2.1 – F1.2.13, 2001.

HULSHOF,P.J.M.; KOSMEIJER-SCHUIL,T.; WEST,C.E.; HOLLMAN,P.C.H. Quick screening of maize kernels for provitamin A content. **J. Food. Compos. Anal.**, v. 20, p. 655–661, 2007.

KUHNEN,S. **Metabolômica e bioprospecção de variedades crioulas e locais de milho (*Zea mays*)**, Tese de Doutorado, Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis, Brasil (2007).

KUHNEN,S.; LEMOS,P.M.M.; CAMPESTRINI,L.H.; OGLIARI,J.B.; DIAS,P.F.; MARASCHIN, M. Carotenoid and anthocyanin contents of grains of Brazilian maize landraces. **J. Sci. Food Agric.**, v. 91, n. 9, p. 1548-1553, 2011.