

DETERMINAÇÃO DO TEOR DE POLIFENÓIS TOTAIS E ATIVIDADE ANTIOXIDANTE EM SUCOS DE UVA COMERCIAIS

Paola Nunes VARGAS*
Solange Cristina HOELZEL**
Claudia Severo da ROSA**

■ **RESUMO:** Cada vez mais, buscam-se nos alimentos substâncias capazes de ajudar a combater o processo oxidativo do organismo. Esse efeito protetor é atribuído aos compostos presentes em alguns alimentos, como na uva, destacando-se os polifenóis. Embora muitos componentes das frutas já tenham sua atividade antioxidante avaliada, torna-se necessário testar em seus derivados como o suco. Assim, o objetivo deste estudo foi determinar o teor de polifenóis totais e a atividade antioxidante em sucos de uva comerciais disponíveis no comércio local. A determinação dos polifenóis totais foi efetuada pelo método Folin-Ciocalteu com leitura em espectrofotômetro de UV/VIS. Observou-se uma variação de 311,9 a 508,4 mg equivalentes de Ácido Gálico/L. O poder antioxidante dos sucos de uva foi analisado segundo a metodologia de seqüestro de radical DPPH. Os percentuais de inibição variaram de 42% a 114%, sendo o menor valor encontrado no suco de uva branca. O suco de uva, fonte de polifenóis, pode auxiliar na prevenção de diversas patologias como aterosclerose, diabetes e câncer.

■ **PALAVRAS CHAVE:** DPPH; antioxidante; sucos.

INTRODUÇÃO

Os radicais livres são átomos ou moléculas altamente reativos produzidos naturalmente no organismo. Além do funcionamento normal do corpo, fatores ambientais como radiação, poluição e tabagismo, podem levar a formação de mais radicais livres, resultando em um estresse oxidativo.^{3,21} Esse processo pode ser prejudicial à saúde, por causar a oxidação das células, podendo desenvolver diversas patologias tais como diabetes, câncer e aterosclerose.^{13,21}

Os antioxidantes são substâncias que retardam a velocidade da oxidação, inibindo os radicais livres e prevenindo a formação de doenças, contribuindo, dessa maneira, para uma maior longevidade. Desta forma, torna-se essencial o equilíbrio entre os radicais livres e o sistema de defesa antioxidante. O organismo possui duas formas de defesa contra os danos causados pelos radicais livres. Uma delas é a utilização de compostos antioxidantes dos alimentos e a outra, um sistema de enzimas celulares, cujas

concentrações são controladas por herança genética que afetam os genes, como as enzimas superóxido dismutase, glutatona e catalase.⁹

Esse sistema de defesa tenta lidar com todos os radicais livres, mas torna-se insuficiente quando as reservas de antioxidantes estão baixas e a quantidade de radicais livres em excesso. Alguns alimentos possuem substâncias com propriedades antioxidantes, capazes de combater o processo oxidativo do organismo. Existe a comprovação de que a uva possui esse efeito protetor, pela presença dos polifenóis, nos frutos *in natura* e em seus produtos derivados, como sucos e vinhos.⁹

Os polifenóis constituem um grupo heterogêneo, composto de várias classes de substâncias com propriedade antioxidante. Essas substâncias estão presentes em vários alimentos e bebidas, mas em especial na uva e em seus derivados. O suco de uva possui um elevado teor de açúcar, principalmente na forma de glicose e frutose, além de conter nutrientes essenciais, micronutrientes, vitaminas e uma grande quantidade e variedade de polifenóis.^{11,19}

Este trabalho teve como objetivo principal determinar o teor de polifenóis totais e analisar a atividade antioxidante de sucos de uva tintas e brancas adquiridos no comércio de Santa Maria-RS.

MATERIAL E MÉTODOS

Amostras

Para esse estudo, foram adquiridas no comércio de Santa Maria – RS, sete amostras de sucos tintos integrais e uma amostra de suco branco integral, ambas de marcas diferentes e produzidos em diversos estados brasileiros. Foi analisada uma embalagem do mesmo lote de cada marca de suco e em nenhuma delas constava no rótulo informações sobre a variedade da uva utilizada na elaboração do suco e a safra vitícola. As amostras de suco foram identificadas por letras, sendo que o suco de uva branca foi identificado

* Nutricionista – Centro Universitário Franciscano – UNIFRA – 97010-032 – Santa Maria – RS – Brasil.

** Centro Universitário Franciscano – UNIFRA – 97010-032 – Santa Maria – RS – Brasil.

pela letra A e os tintos pelas letras B, C, D, E, F, G e H, respectivamente. Todas as análises foram realizadas em quatro repetições.

Análises Físico-Químicas

Determinou-se a densidade dos sucos por meio da razão entre massa e volume em sala climatizada na temperatura de 20°C e os sólidos solúveis com auxílio de refratômetro portátil da marca Carlzeiss Jena®. Os açúcares totais e acidez total foram determinados segundo Normas Analíticas do Instituto Adolfo Lutz¹⁴ e Amerine & Ough² e a atividade antioxidante pelo método de DPPH.

Determinação de Polifenóis Totais pelo Método Folin Ciocalteau

A concentração de polifenóis totais foi determinada pelo método colorimétrico descrito por Singleton & Rossi.²⁰ Em balão volumétrico de 20 mL, adicionaram-se 2 mL de amostra diluída (1:10), 10 mL de reagente de Folin-Ciocalteau diluído (1:9) e 8 mL de Ca₂CO₃ a 75%. Após, foi deixado em banho-maria a 50°C, por 5 minutos. Em seguida, foram tomadas leituras a 765nm em espectrofotômetro UV/VIS.

Para quantificação foi empregada uma curva padrão com solução de ácido gálico nas seguintes concentrações: 50, 100, 150, 250 e 500 mg/L. Foi calculado um coeficiente de correlação (R²), resultando R²= 0,9978 ao nível de significância de 5%. O teor de polifenóis totais foi expresso em mg equivalente de Ácido Gálico (EAG)/L.

Determinação da Atividade Antioxidante por Meio do Método de Seqüestro de Radicais Livres (DPPH)

A capacidade antioxidante foi avaliada utilizando-se o método do seqüestro de radicais livres do DPPH (2,2 difenil-1-picrilhidrazil), que se baseia em um ensaio fotométrico onde o radical livre DPPH, que apresenta coloração roxa intensa em solução alcoólica, se reduz em presença de moléculas antioxidantes, formando o 2,2 difenil-1-picrilhidrazil, que é incolor. Um volume de 2,5 mL de cada amostra, foi adicionado a 1,0 mL de solução metanólica de DPPH. Para o controle, foram acrescentados 2,5 mL do branco na solução de DPPH. Após 30 minutos foram realizadas as leituras das absorbâncias das amostras a 518nm, em espectrofotômetro. Os cálculos foram efetuados com o auxílio da seguinte fórmula:

$$\% \text{ descoloração do DPPH} = 100 - [(Ab \text{ amostra} - Ab \text{ branco}) \times 100 / Ab \text{ branco}]$$

onde, Ab amostra e Ab branco, significam respectivamente, absorbância da amostra e absorbância do branco. A capacidade antioxidante dos sucos foi expressa pela porcentagem de seqüestro de radicais livres DPPH (%S.R.L.).¹

Análise Estatística

Os resultados encontrados nos parâmetros físico-químicos foram expressos na forma de média e coeficiente de variação (C.V.%), de acordo com Braule.⁵

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os parâmetros físico-químicos analisados nos sucos de uva no presente estudo, como densidade, acidez total, sólidos solúveis e açúcares totais, foram confrontados aos parâmetros estabelecidos pela legislação regulamentar, Decreto nº 73.267/73 do Ministério da Agricultura¹⁸ que trata dos padrões de identidade e qualidade para suco de uva, conforme mostrado na Tabela 1.

Tabela 1 – Características analíticas dos sucos de uva comercial, comparados aos limites da legislação brasileira.

Parâmetros	Limites da Legislação		Suco Integral			
	Mín.	Máx.	Mín.	Máx.	Média	C.V.% ¹
Densidade ²	1,057	---	1,055	1,065	1,053	0,33
Acidez Total ³	---	0,90	0,48	0,85	0,622	1,81
Sólidos Solúveis ⁴	14,0	---	14	17,5	15,5	6,34
Açúcares Totais ⁵	---	20,0	3,75	7	5,52	2,81

¹Coeficiente de Variação (C.V.%).

²Densidade Relativa 20/20°C.

³Acidez Total g/100mL em ácido tartárico.

⁴Sólidos Solúveis em °Brix.

⁵Açúcares Totais, naturais da uva, g/100mL.

Segundo a legislação brasileira,¹⁸ o suco integral é obtido da uva através de processos tecnológicos adequados não fermentados, sem adição de açúcares e na sua concentração natural. Assim, conforme os resultados encontrados nas análises físico-químicas de sucos integrais verificou-se que a média da densidade apresentou-se levemente abaixo do limite mínimo, enquanto que, os parâmetros de sólidos solúveis, acidez total e açúcares totais, encontraram-se dentro dos limites preconizados pela legislação.

Na Figura 1 estão os valores encontrados para polifenóis totais nas diferentes marcas de sucos analisadas no experimento, onde podemos encontrar valores que variaram entre 311,9 a 508,4, com um valor médio de 440,11 mg em EAG/L.

O suco de uva tinta da amostra F foi o que apresentou o maior teor de polifenóis, com 508,4 mg em EAG/L. O suco de uva branca também apresentou um elevado valor, de 487,3 mg em EAG/L, em comparação aos sucos de uva tintas.

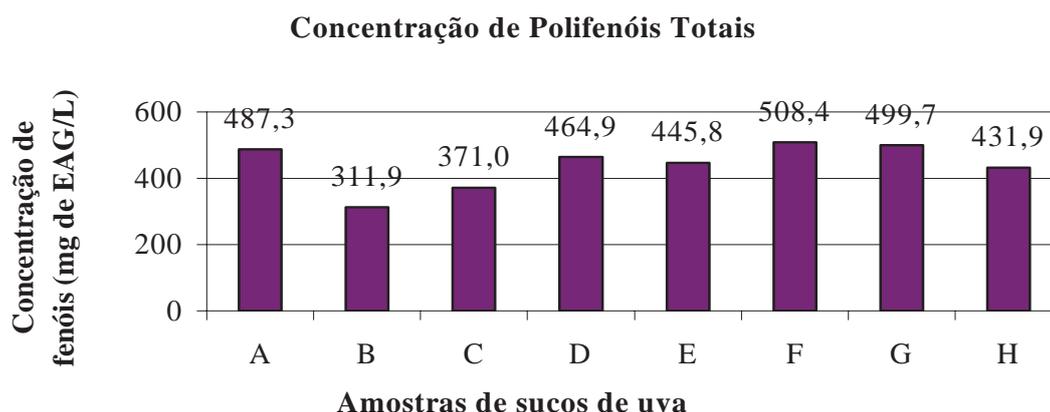


FIGURA 1 – Concentração de polifenóis totais em sucos tintos (B, C, D, E, F, G, H) e branco (A).

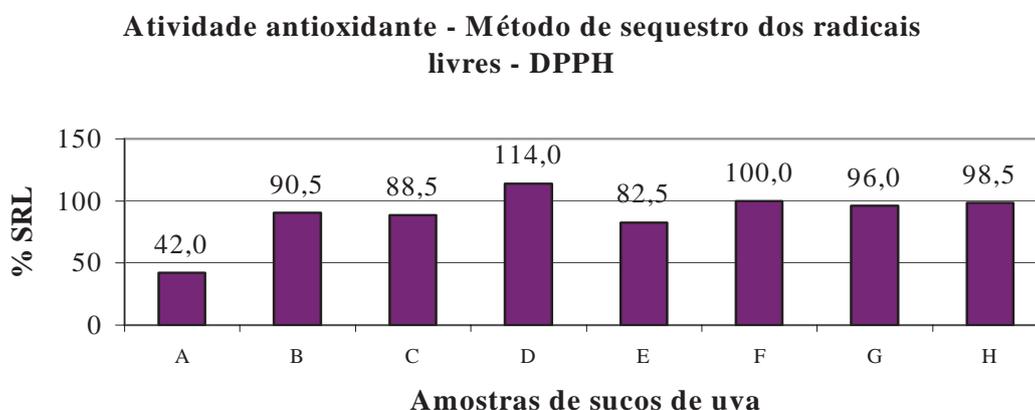


FIGURA 2 – Atividade antioxidante em sucos tintos (B, C, D, E, F, G, H) e branco (A).

De acordo com Mazza¹⁷ o conteúdo de fenólicos no suco varia de acordo com a variedade da uva, com a maturidade, regiões e práticas de cultivo das mesmas. Nenhuma das marcas analisadas neste trabalho, continha informações no rótulo sobre a variedade, safra ou região produtora da uva utilizada na fabricação do suco. Dani et al.⁷ encontraram uma grande quantidade de polifenóis totais no suco de uva branca, semelhante ao que foi observado nesse estudo. Malacrida & Motta¹⁶ encontraram nos sucos de uva reconstituídos valores de 270 e 1320 mg em EAG/L e em sucos de uva simples, valores que variaram entre 600 e 2410 mg em EAG/L. Em outro estudo, Frankel et al.,^{10,11} encontraram valores médios de 1790 mg em EAG/L para sucos de uva Concord e de 1470 mg em EAG/L para sucos produzidos a partir de misturas de diferentes variedades de uva.

Kuskoski et al.,¹⁵ pesquisaram o índice de polifenóis totais em frutos tropicais silvestres como o baguaçu e jambolão e polpas de frutas comercialmente congeladas. Os resultados mostraram que o extrato de baguaçu contém elevado teor, com 897,6mg em EAG/100g⁻¹, quando comparados aos frutos em bagas como o jambolão que apresentou 229,6 mg em EAG/100g⁻¹. Quanto às polpas

congeladas das frutas, como a da acerola, açaí e morango, também apresentaram elevados valores com 580,1mg em EAG/100g⁻¹, 136,8 mg em EAG/100g⁻¹ e 132,1 mg em EAG/100g⁻¹, respectivamente.

Malacrida & Motta¹⁶ analisaram vinhos italianos envelhecidos provenientes das uvas Merlot, Cabernet Sauvignon, Cabernet Franc, Sangiovese, Gamay e encontraram valores que variaram de 530 a 2050 mg em EAG/L. Por outro lado, Freitas,¹² em um estudo com vinhos tintos, verificou que a concentração de polifenóis totais variou de 491,4 a 1722,3 mg em EAG/L.

Baseado nestes resultados pode-se concluir que as quantidades de polifenóis totais encontradas nos sucos de uva simples, aproximam-se dos valores encontrados nos vinhos tintos, sendo, portanto um produto de elevado potencial antioxidante, capaz de combater um processo oxidativo do organismo. Porém, de acordo com Bell et al.,⁴ o vinho pela presença do álcool, pode trazer pelo menos um benefício que o suco de uva não traz que é aumentar os níveis de HDL no sangue. Entretanto, os sucos de uva, devido a ausência do álcool, podem ser indicados para pessoas abstêmias.

Resultados em relação à atividade antioxidante dos sucos de uva podem ser visualizados na Figura 2, onde observamos uma variação de 42% a 114% em todas as amostras. Cabe destacar que o valor mais baixo encontrado na amostra A (42%), é a do suco de uva branco. Entre os sucos de uva tintas, a capacidade de seqüestrar radicais livres, ficou em média 95,7%.

Portanto, o suco de uva tinta apresentou maior atividade antioxidante em relação ao suco de uva branco. Porém, embora o suco de uva branco tenha mostrado o valor mais baixo de atividade antioxidante, sua quantidade de polifenóis totais foi relativamente alta.

Segundo Choi et al.,⁶ os compostos polifenólicos são os principais responsáveis pela atividade antioxidante em frutos.

Embora a vitamina C seja considerada por alguns autores como o maior contribuinte na atividade antioxidante, Sun et al.,²² verificaram que a contribuição dessa vitamina na determinação da atividade antioxidante de onze frutos é baixa, e afirmaram que a maior contribuição para a atividade antioxidante total de frutos deve-se a presença dos compostos polifenólicos.

Duarte et al.,⁸ testaram a capacidade antioxidante, *in vivo* e *in vitro* em sucos de uva branco e tinto. Todas as amostras estudadas apresentaram importante atividade antioxidante. Seus resultados também mostraram que o suco de uva tinto apresentou maior atividade antioxidante *in vitro*. Porém no ensaio *in vivo*, os sucos brancos apresentaram atividade protetora significativamente superior. Verificou-se também que os sucos de uva tinta apresentaram uma atividade excelente na proteção da hemólise oxidativa dos eritrócitos e contra a peroxidação lipídica.

CONCLUSÕES

Tanto os sucos de uva tintas, quanto o branco, apresentaram grande quantidade de polifenóis totais.

A atividade antioxidante de sucos de uvas tintas são maiores do que as observadas em suco de uva branco.

O suco de uva branco apresentou baixa atividade antioxidante e, por isso, não pode ser indicado para essa finalidade.

O suco de uva, independente de ser proveniente de uvas tintas ou brancas, pode ser considerado uma boa alternativa como fonte de polifenóis totais e um alimento de moderado potencial antioxidante.

VARGAS, P.N.; HOELZEL, S.C.; ROSA, C.S. Determination of total polyphenols content and antioxidant activity in commercial grape juices. **Alim. Nutr.**, Araraquara, v.19, n.1, p. 11-15, jan./mar. 2008.

■ABSTRACT: Food research is focusing more and more on food substances capable of helping to combat oxidative processes in the organism. This protective effect is attributed

to compounds present in some foods, such as the grape, in which the polyphenols stand out. Although many components of fruits have already been evaluated for antioxidant activity, it is essential to test products derived from fruit, such as juice, as it is a complex mixture. Thus, the objective of this study was to determine the total polyphenol content and the antioxidant activity. Locally available commercial grape juices. The total polyphenol content was measured by the Folin-Ciocalteu colorimetric method, absorbance being read in a UV-VIS spectrophotometer. The results showed a variation of 311.9 to 508.4 Gallic Acid Equivalents per litre. The antioxidant power of grape juices was analyzed by the DPPH free-radical scavenging technique. The percent inhibition of scavenging capacity from varied 42% to 114%, the lowest value being formed in the white grape juice. Owing to the large amount of polyphenols in the samples, it was concluded that grape juice is an important source of these compounds in the diet and, by means of its antioxidant activity, can help to prevent a diverse range of pathological conditions.

■KEYWORDS: DPPH; antioxidant; juices.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. ALMEIDA, J. M et al. Avaliação da atividade antioxidante utilizando sistema B-caroteno/ácido linoleico e método de seqüestro de radicais DPPH. **Ciênc. Tecnol. Alim.**, Campinas, v. 26, n. 2, p. 446-452, 2006.
2. AMERINE, M.; OUGH, C. S. **Wine and must analysis**. New York: J. Wiley & Sons, 1980. 388p.
3. ANGELIS, R. C. **Fome oculta**: impacto para a população do Brasil. São Paulo: Atheneu, 1999. cap.33.
4. BELL, J. R. et al. Catechin in human plasma after ingestion of a single serving of reconstituted red wine. **Am. J. Clin. Nutr.**, v. 71, n. 1, p. 103-108, 2000.
5. BRAULE, R. **Estatística aplicada com Excel para cursos de administração e economia**. São Paulo: Campus, 2001. 199 p.
6. CHOI, C et al. Antioxidant activity and radical scavenging capacity between Korean medicinal plants and flavonoids by assay-guided comparison. **Plant Sci.**, v. 163, p. 1161-1168, 2002.
7. DANI, C.etal. Antioxidant, mutagenic and antimutagenic activities of the organic and conventional, white and purple grape juice. **Food Chem. Toxicol.**, (No prelo).
8. DUARTE, J. M. et al. Avaliação da atividade antioxidante utilizando sistema β-caroteno/ácido linoleico e método de seqüestro de radicais DPPH. **Ciênc. Tecnol. Alim.**, v. 26, n. 2, p. 446-452, 2006.
9. FERREIRA, L. A.; MATSUBARA, L. S. Radicais livres: conceitos, doenças relacionadas, sistema de defesa e estresse oxidativo. **Rev. Ass. Med. Brasil**, v. 43, n.1, p. 61-8, 1997.

10. FRANKEL, E. N. et al. Commercial grape juice inhibits the in vitro oxidation of human low-density lipoproteins. **J. Agric. Food Chem.**, v. 46, n.3, p. 834-838, 1998.
11. FRANKEL, E. N. et al. Principal phenolic phytochemical in selected California Wines and their antioxidant activity in inhibiting oxidation of human low – density lipoproteins. **J. Agric. Food Chem.**, v. 43, n. 2, p. 890-894, 1995.
12. FREITAS, D. M. **Evolução dos parâmetros cromáticos e compostos fenólicos na conservação de vinhos tintos.** 2000. 132f. Dissertação (Mestrado em Tecnologia de Alimentos) – Universidade Federal de Santa Maria, 2000.
13. HUANG, D. et al. The chemistry behind antioxidant capacity assays. **J. Agric. Food Chem.**, v. 56, n. 53, p. 1841-1856, 2005.
14. INSTITUTO ADOLFO LUTZ. **Normas analíticas: métodos químicos e físicos para análise de alimentos.** São Paulo, 1985. 371p.
15. KUSKOSKI, M. K et al. Frutos tropicais silvestres e polpas de frutas congeladas: atividade antioxidante, polifenóis e antocianinas. **Rev. Ciênc. Rural**, v. 36, n. 4, p. 1283-1287, 2006.
16. MALACRIDA, C. R.; MOTTA, S. Compostos fenólicos totais e antocianinas em suco de uva. **Ciênc. Tecnol. Alim.**, v. 25, n. 4, p. 659-664, 2005.
17. MAZZA, G. Anthocyanins in grape and grape products. **Food Sci. Nutr.**, v.35, n. 4, p. 341-371, 1995.
18. M. A. BRASIL. Ministério da Agricultura. Portaria nº 371. Complementação dos padrões de identidade e qualidade para suco, refresco e refrigerante de: uva: 25-29. **Diário Oficial [da] República Federativa do Brasil**, de 19 de setembro de 1974. p. 60.
19. SHAHIDI, F.; NACZK, M. **Food phenolics: sources, chemistry, effects and applications.** Lancaster: Technomic, 1995. 331 p.
20. SINGLETON, V. L.; ROSSI, J. A. Colorimetry of total phenolics with phosphomolybdic-phosphotungstic acid reagents. **Am. J. Enol. Vitic.**, v. 20, n. 2, p. 144-158, 1965.
21. SIZER, F. S; WHITNEY, E. N. **Nutrição: conceitos e controvérsias.** São Paulo: Manole, 2003. 800 p.
22. SUN, J. et al. Antioxidant and antiproliferative activities of common fruits. **J. Agric. Food Chem.**, v. 50, n. 25, p. 7449-7454, 2002.