

AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE ANTIOXIDANTE PELO SISTEMA β – CAROTENO/ ÁCIDO LINOLÉICO EM SUCOS DE UVA COMERCIAIS¹

EVALUATION OF THE ANTIOXIDANT ACTIVITY BY THE β - CAROTENE/ ACID LINOLEIC SYSTEM IN COMMERCIAL GRAPE JUICE

Paola Nunes Vargas², Cláudia Severo da Rosa³ e Solange Cristina da Silva Martins Hoelzel³

RESUMO

Cada vez mais, pesquisas procuram 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, com destaque para os polifenóis. Embora muitos componentes das frutas já tenham sua atividade antioxidante avaliada, torna-se necessário testá-la em seus derivados, como o suco, por ser uma mistura complexa. O objetivo, neste estudo, foi avaliar-se a capacidade antioxidante de sucos de uva tintas e branca comerciais, pelo sistema de β - caroteno/ácido linoléico. Verificou-se, com os resultados, que os sucos de uvas tintas e branca apresentam grande propriedade antioxidante. Isso sugere a importância de consumir, diariamente, na alimentação, essas fontes alimentares, a fim de aumentar as reservas antioxidantes do organismo, combatendo o estresse oxidativo e, conseqüentemente, prevenindo diversas doenças crônico - degenerativas.

Palavras-chaves: suco de uva, doenças degenerativas, efeitos benéficos.

ABSTRACT

Each time more, many researches look for, in different kinds of food, substances capable of helping to fight the oxidative process of the organism. This protective effect is attributed to some composites in some kinds of food, as in grapes, with a highlight for polyphenols.. Although many components of the fruits already have their antioxidant activity evaluated, it becomes necessary to test it in its derivatives as juice, for it is a complex mixture. The objective of this study was

¹ Trabalho Final de Graduação - TFG.

² Acadêmica do Curso de Nutrição - UNIFRA.

³ Orientadoras - UNIFRA.

to evaluate the antioxidant capacity of commercial white and red grape juice by the β -Carotene/acid linoleic system. It was noticed from the results that the white and red grape juice present a great antioxidant property. This suggests the importance of the daily consume these food sources, in order to raise the antioxidant reserves in the organism, fighting the oxidant stress and, consequently, preventing diverse degenerative diseases.

Key words: *grape juice, degenerative diseases, beneficial effects.*

INTRODUÇÃO

Os radicais livres (RL) são átomos ou moléculas altamente reativos, produzidos naturalmente no organismo, mas que, se produzidos em excesso, podem ser prejudiciais à saúde, ao causar a oxidação das células, podendo desenvolver diversas patologias.

Os antioxidantes são substâncias que retardam a velocidade da oxidação, inibindo os RL e prevenindo a formação de doenças. Assim, tentando relacionar as doenças crônicas e agudas com a alimentação, pesquisadores procuram, nos alimentos, substâncias benéficas à saúde, capazes de combater a formação excessiva de radicais livres.

Estudos epidemiológicos comprovam que o consumo diário de alguns alimentos, como as frutas e verduras, fornecem uma quantidade significativa de antioxidantes ao organismo, por meio da vitamina C, vitamina E, carotenóides e diversos compostos polifenólicos.

Os polifenóis são um grupo heterogêneo de substâncias, constituído de várias classes de compostos, com propriedade antioxidante, presentes em vários alimentos e bebidas, mas em especial na uva e em seus derivados. Dessa forma, este trabalho teve como objetivo analisar a atividade antioxidante de sucos de uva comerciais tintas e branca adquiridos no comércio de Santa Maria - RS.

REFERENCIAL TEÓRICO

A oxidação é um processo que ocorre naturalmente no organismo, quando as células utilizam oxigênio para produzir energia. Por meio da respiração, 2 a 5% de oxigênio que entram no corpo, acabam reagindo com compostos e produzem moléculas altamente instáveis, conhecidas por radicais livres (RL). Muitos desses processos formam RL com efeitos benéficos e importantes nas reações bioquímicas e fisiológicas do corpo humano. O problema começa, quando a quantidade de RL está muito

elevada, excedendo as defesas do organismo, condição conhecida por estresse oxidativo (ANGELIS, 1999; SIZER; WHITNEY, 2003).

A formação de RL ou espécies reativas do oxigênio (ERO) no organismo é muito simples, pois estes são moléculas com um ou mais elétrons não pareados. Dessa forma, um elétron sem par é instável e para recuperar sua estabilidade, quando encontra um composto estável, mas vulnerável, ele acaba roubando um elétron. Com a perda de um elétron, a molécula anteriormente estável, torna-se um radical livre e rouba um elétron de outra molécula. A formação dos radicais livres inicia e se espalha rapidamente, em um cenário de reações de óxido-redução, isto é, ou cedem o elétron solitário, oxidando-se, ou recebem outro, reduzindo-se. As formas mais comuns que se encontram os radicais livres são: o radical superóxido, peróxido de hidrogênio e radical hidroxila (SIZER; WHITNEY, 2003; MAMEDE; PASTORE, 2004; CHOI et al., 2006).

Os radicais livres são altamente reativos e se houver produção excessiva e não existir antioxidantes disponíveis *in vivo*, podem causar diversos danos tais como: afetarem os nucleotídeos do DNA, perturbando todas as células que herdarem esse DNA danificado; reagirem com ácidos graxos polinsaturados encontradas nas membranas celulares; prejudicarem as ligações das proteínas celulares, perturbando suas funções, além de alterarem várias rotas metabólicas do organismo. Estes processos podem levar a degeneração dos tecidos, podendo resultar em diversas patologias, dentre elas: câncer, aterosclerose, reumatismo, artrite e doenças degenerativas, como Parkinson e Alzheimer (HALLIWEL, 1997; SIZER; WHITNEY, 2003; HUANG et al., 2005). Assim, torna-se essencial o equilíbrio entre os RL e o sistema de defesa antioxidante.

O organismo possui duas defesas contra os danos causados pelos RL. Uma delas é a utilização de compostos antioxidantes dos alimentos. A outra, um poderoso sistema de enzimas celulares, que são proteínas cujas concentrações são controladas por herança genética e pelas influências que afetam os genes. Superóxido dismutase (SOD), glutathione e catalase, são, portanto, as enzimas responsáveis por neutralizar os RL, contrapondo a oxidação (FERREIRA; MATSUBARA, 1997).

Esse sistema de defesa tenta lidar com todos os RLs, mas torna-se insuficiente quando as reservas de antioxidantes estão baixas e a quantidade de RL é excessiva. A partir disso, pesquisas procuram nos alimentos substâncias com propriedades antioxidantes, capazes de combater o processo oxidativo do organismo. Está comprovado que, entre vários alimentos, a uva possui esse efeito protetor, pela presença dos polifenóis, que são repassados aos seus produtos derivados (FERREIRA; MATSUBARA, 1997).

Dessa maneira, o suco de uva é considerado uma bebida energética pelo alto teor de açúcar na forma de glicose e frutose, além de conter uma grande quantidade e variedade de compostos polifenólicos. Apresenta minerais como K, Ca, Mg e P, além de ser rico em vitaminas A e C e do complexo B. O suco de uva da Serra Gaúcha é elaborado com uvas americanas, especialmente com a isabel, a bordô e a concord (SHAHIDI; NACZK, 1995; RIZZON; LINK, 2006).

Os compostos polifenólicos ou polifenóis são produzidos em abundância pela videira e estocados, principalmente, nas cascas e sementes da uva. Trata-se de um grupo heterogêneo de substâncias que retardam a velocidade da oxidação, por meio de um ou mais mecanismos, tais como inibição de RL e complexação de metais (PIETA, 2000; GUERRA, 2005). Assim, os polifenólicos, além de ação antioxidante, possuem também propriedades antibacteriais, antiviral, antihepatotóxica e antialérgica. Outra propriedade dos polifenóis, presente na uva, é a de inibir a histidina descarboxilase (H.D) e atuar com eficácia nas infecções causadas por *helicobacter pylori*, combatendo as úlceras gástricas, que são causadas pelo excesso da H.D (FINE, 2000; MAMEDE; PASTORE, 2004; KUSKOSKI et al., 2006).

Além disso, o coração é o órgão mais suscetível a uma degeneração oxidativa prematura, ocasionado pela excessiva formação de RL, que pode levar a uma disfunção do processo cardiovascular. Assim, o uso de antioxidantes surge como uma estratégia promissora na prevenção de doenças cardiovasculares (FRANCIS, 2000; SCHWARTSMANN, 2005).

Muitas pesquisas têm sido realizadas, avaliando os efeitos antioxidantes dos sucos de uva na diminuição do risco de desenvolver coágulos no sangue, demonstrando-se eficaz, ao inibir a síntese de tromboxinas. Além disso, os compostos polifenólicos, presentes nessa bebida, possuem ação antiinflamatória e previnem a peroxidação de lipídios, ao inibir a enzima ciclooxigenase e a lipogenase, mostrando-se mais efetivos na inibição de formação de gorduras nas artérias do que a vitamina E (FRANKEL et al., 1998; BELL et al., 2000; NACAMURA; TONOGAI, 2002).

Estudos realizados por um grupo de pesquisadores da Universidade de Milano, na Itália, mostraram os benefícios neuroprotetores que podem ser oferecidos pelos polifenóis que, por sua ação antioxidante, apresentam um efeito protetor ao sistema nervoso, pela diminuição do estresse oxidativo de células neuronais (SOUTO et al., 1999).

MATERIAL E MÉTODOS

Para esse estudo, foram adquiridas, no comércio de Santa Maria – RS, sete amostras de sucos tintos e 1 amostra de suco branco, 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, constavam, no rótulo, informações sobre a variedade da uva utilizada na elaboração do suco e a safra vitícola.

A atividade antioxidante foi determinada pela medida da oxidação associada de β -caroteno e ácido linoléico. Para o preparo da mistura reativa, em um balão, foi colocado 20mg de ácido linoléico purificado (agente oxidante), 200mg Tween 40 (agente emulsificante) e 1 ml de solução clorofórmio-caroteno, depois de ter sido dissolvido 1,0 mg de β -caroteno em 10ml de clorofórmio. Posteriormente, a mistura foi submetida à completa evaporação do clorofórmio, em um evaporador rotativo a 50°C. A essa mistura, isenta de clorofórmio, juntou-se cerca de 50ml de água oxigenada, que foi adicionada ao frasco com vigorosa agitação.

Após, em cada tubo do espectrofômetro, foram colocadas em alíquotas 5ml dessa mistura reativa, mais 0,2ml de solução antioxidante que estava sendo testada. As amostras foram lidas contra o Branco (emulsão menos o caroteno). Os tubos de alíquotas foram tampados e colocados em banho-maria a 50°C, para acelerar as reações de oxidação e iniciar o decoloramento do β -caroteno. As análises foram realizadas em duplicata e as leituras das absorvâncias de 470nm, foram realizadas imediatamente, com intervalos de 15 min, durante 105 minutos, em espectrofômetro de UV/VIS (HAMMERSCHMIDT; PRATT, 1978).

Segundo Lima et al. (2004), os resultados da atividade antioxidante foram calculados em relação à queda da absorvância das amostras (A_{am}), correlacionadas à queda do controle (A_c), que era o branco, obtendo-se a porcentagem da inibição da oxidação (%I), por meio da equação abaixo:

$$\% I = \frac{A_{am} - A_c}{A_c} \times 100$$

RESULTADOS E DISCUSSÃO

O poder antioxidante dos sucos de uva comerciais foi analisado pela medida acoplada do β -caroteno com ácido linoléico e o resultado expressado em porcentagem de inibição, conforme a figura 1.

Os resultados desse estudo mostraram que o suco de uva tinta da amostra B foi o que apresentou maior capacidade antioxidante, tendo um

percentual de inibição de radicais livres de 119% no tempo 30. Quanto ao suco da amostra A, que era o suco de uva branca, também apresentou alta capacidade antioxidante, em comparação aos sucos de uva tintas. Além disso, todas as diferentes amostras de sucos de uva apresentaram maior percentual de inibição no tempo 30.



Figura 1. Percentual de inibição em sucos de uva tintas e branca.

Com esses resultados, verificou-se que os sucos de uva tintas e branca podem fornecer diversos benefícios à saúde, assim como o vinho, por apresentar elevado potencial antioxidante, capaz de combater um processo oxidativo no organismo. De acordo com Bell et al. (2005), porém, o vinho, pela presença do álcool, pode trazer pelo menos um benefício que o suco de uva não traz, aumentar os níveis de HDL no sangue. Sendo que os sucos de uva, pela ausência do álcool, podem ser indicados para pessoas abstêmias e portadores de algumas patologias como a hepatite, cirrose, entre outras.

Essa elevada capacidade de atividade antioxidante encontradas nos sucos de uva tintas e branca, justifica-se pela presença de polifenóis no suco de uva ou devido à presença do conservante metabissulfito de sódio, conforme identificado na maioria das amostras. De acordo com Gava (1998), esse conservante é um protetor do ácido ascórbico, caroteno e outros compostos facilmente oxidáveis.

Segundo os autores Almeida et al. (2006), para que os compostos fenólicos sejam considerados antioxidantes e possam exercer seu papel biológico, é necessário que, em baixa concentração, sejam capazes de impedir, retardar e prevenir a auto-oxidação ou oxidação mediada por radicais livres e que o produto formado após a reação seja estável.

Em um estudo realizado com o extrato das frutas açaí, acerola, morango e amora, foi testada a capacidade antioxidante desses extratos por

meio do sistema β -caroteno/ácido linoléico. Os resultados verificaram que a acerola, conhecida por ter alta concentração de ácido ascórbico, apresentou percentual de inibição negativo, ou seja, atividade pró-oxidante. Isso pode se justificar pelo fato de o ácido ascórbico, após doar os 2 hidrogênios redutores, ficar passível de receber elétrons devido à formação do radical ascorbila, sendo esse um agente oxidante. Por outro lado, as amostras de morango, amora e açaí que contêm uma maior concentração de compostos polifenólicos apresentaram atividade antioxidantes elevadas (ALMEIDA et al., 2006).

De acordo com Lima et al. (2004), um estudo utilizando esse mesmo método, testou a capacidade antioxidante do broto do feijão-mungo, um alimento funcional, muito utilizado pelos chineses. Segundo o autor, esse tipo de vegetal apresenta um grande poder antioxidante, pela presença de compostos polifenólicos na sua composição. Os resultados mostraram que o vegetal apresentou atividade antioxidante com 48,07% de inibição, baixo resultado em relação aos encontrados nos sucos deste trabalho.

Segundo o autor acima, outros vegetais que apresentam compostos fenólicos em sua constituição também têm apresentado ação antioxidante em sistema modelo β -caroteno/ácido linoléico, a exemplo de pimenta de várias cultivares com 50,1% a 81,5%, extrato aquoso de canela com 68%, germe de trigo e ginseng com 64,9% e 69,1% de inibição da oxidação, respectivamente. Esses valores tornam-se baixos em relação aos encontrados nos sucos de uva. Destaca-se, assim, a grande propriedade antioxidante encontrada nos sucos de uva.

CONCLUSÃO

De acordo com o sistema utilizado, β -caroteno/ácido linoléico, observou-se um elevado percentual de inibição de RL no tempo de 30 minutos em todas as amostras analisadas. Verificando-se que o suco de uva apresenta uma grande quantidade de antioxidantes, tal como a fruta na forma “in natura”. Isso sugere a importância de se consumir, diariamente, essas fontes alimentares.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ALMEIDA, J.; SANTOS, R.; GENOVESE, M. et al. Avaliação da atividade antioxidante utilizando sistema B-caroteno/ácido linoléico e método de seqüestro de radicais DPPH. **Ciência e tecnologia dos alimentos**, Campinas, v. 26, n. 2, p. 446-452, 2006.

ANGELIS, Rebeca C. de. **Fome oculta: impacto para a população do Brasil.** São Paulo: Atheneu, 1999.

BELL, J. R.; DONOVAN, J. L.; WONG, R. et al. Catechin in human plasma after ingestion of a single serving of reconstituted red wine. **The American Journal of Clinical Nutrition**, USA, v. 71, p. 103-108, 2000.

CHOI, C. et al. Antioxidant activity and radical scavenging capacity between Korean medicinal plants and flavonoids by assay-guided comparison. **Plant Science**, Chicago, v. 2007, n. 163, p. 1161-1168, 2006.

FINE, Anne M. Oligomeric Proanthocyanidin Complexes: History, Structure, and Phytopharmaceutical Applications. **Alternative Medicine**, USA, v. 5, n. 2, p. 144 -151, 2000.

FRANCIS, F. J. Anthocyanins and betalains: composition and applications. **Cereal Food World**, Chicago, v. 45, n. 5, p. 208-213, 2000.

FRANKEL, E. N.; BOSANEK, C.A.; MEYER, A. S. et al. Commercial grape juice inhibits the in vitro oxidation of human low-density lipoproteins. **Journal of Agriculture and Food Chemistry**, Washington, v. 46, n. 3, p. 834 -838, 1998.

FERREIRA, A. L. A.; MATSUBARA, L. S. Radicais Livres: conceitos, doenças relacionadas, sistema de defesa e estresse oxidativo. **Revista da Associação Médica Brasileira**, Botucatu, v. 43, n. 1, p. 61-8, 1997.

GAVA, Altamir J. **Princípio de tecnologia de alimentos.** São Paulo: Nobel, 1998.

GUERRA, Celito C. Compostos fenólicos do vinho. In: SIMPÓSIO INTERNACIONAL VINHO E SAÚDE, 1.,2005, Bento Gonçalves. **Anais...** Bento Gonçalves: IBRAVIN, EMBRAPA, p. 39-40, 2005.

HALLIWEL, B. Antioxidantes. In: Ziegler E.E, Filer J.L.J, editors. Conocimientos actuales sobre nutrición. Washington: **International Life Sciences Institute Press**, 7. ed, p. 636-44, 1997.

HAMMERSCHMIDT, Patrícia.; PRATT, Dan E. Phenolic antioxidants of dried soybeans. **Journal of food science**, Chicago, v. 43, n. 2, p. 556-559, 1978.

HUANG, D.; OU, B.; PRIOR, R. The chemistry behind antioxidant capacity assays. **Journal of Agriculture and Food Chemistry**, Washington, v. 53, n. 56, p. 1.841-1.856, 2005.

KUSKOSKI, M. K.; ASUERO, A. G.; MORALES, M. T. et al. Frutos tropicais silvestres e polpas de frutas congeladas: atividade antioxidante, polifenóis e antocianinas. **Ciência Rural**, Santa Maria, v. 36, n. 4, p. 1283-1287, 2006.

LIMA, V. G. de; MÉLO, E. A; MACIEL, M. I. S. et al. Fenólicos totais e atividade antioxidante do extrato aquoso de broto de feijão-mungo (*Vigna radiata* L.). **Revista de Nutrição**, Campinas, v. 17, n. 1, p. 53-57, 2004.

MAMEDE, Maria Eugênia de O.; PASTORE, Gláucia Maria. Compostos fenólicos do vinho: estrutura e ação antioxidante. **Boletim de Pesquisa e Processamento de Alimentos**, Curitiba, v. 22, n. 2, p. 232-252, 2004.

NACAMURA, Yumiko; TONOGAI, Yasuride. Effects of grape seed on serum and hepatic lipid contents and fecal steroid excretion in normal and hipercholesterolemic rats. **Journal of Health Science.**, Japan. v. 48, n. 6, p. 570-578, 2002.

PIETA, P. G. Flavonoids as antioxidants. **Journal of Natural Products**, Washington, v. 63, n. 7, p. 1.035-1.042, 2000.

RIZZON, Luiz A.; LINK, Marcos. Composição do suco de uva caseiro de diferentes cultivares. **Ciência Rural**, Santa Maria, v. 36, n. 2, p. 689-692, 2006.

SCHWARTSMANN, Gilberto. Vinho e oncogênese. In: SIMPÓSIO INTERNACIONAL VINHO E SAÚDE, 1., 2005, Bento Gonçalves. **Anais...** Bento Gonçalves: IBRAVIN, EMBRAPA, p. 29, 2005.

SHAHIDI, F.; NACZK, M. **Food Phenolics: sources, chemistry, effects and applications**, Lancaster: Technomic, 1995.

SIZER, Frances S; WHITNEY, Eleanor N. **Nutrição: conceitos e controvérsias**. 8. ed. Barueri: Manole, 2003.

SOUTO et al. Benefícios do vinho à saúde. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE VITICULTURA E ENOLOGIA, 9., 1999, Bento Gonçalves. **Anais...** Bento Gonçalves: EMBRAPA UVA E VINHO, p. 39-42, 1999.