



Atividade Antioxidante das Cultivares Isabel Precoce, BRS Violeta e BRS Magna

ANTIOXIDANT ACTIVITY OF ISABEL PRECOCE, BRS VIOLET AND BRS MAGNA CULTIVARS

Maiara Cristina de Araujo* Dr^a. Solange Maria Cottica†, Dr^a Alessandra Maria Detoni‡

RESUMO

O presente trabalho teve como objetivo avaliar o teor de flavonoides, cinzas e umidade, assim como, a atividade antioxidante pelo método 2,2-difenil-1-picrilhidrazila (DPPH) e habilidade quelante nos frutos e no suco das cultivares BRS Violeta, BRS Magna e Isabel precoce. Na análise estatística dos resultados utilizou a variância (ANOVA) a 5% de probabilidade, pelo teste de Tukey. Por métodos espectrofotométricos os sucos da variedade BRS Violeta apresentaram os melhores resultados para as análises de compostos flavonoides com $204,54 \pm 31,69$ mg EQ L⁻¹ (mg equivalente de quercetina por litro). Os sucos das variedades Isabel precoce e BRS magna apresentaram maior atividade antioxidante no método DPPH, 0,334 de absorvância para a Isabel precoce e 0,334 de absorvância para BRS magna. Já habilidade quelante, a uva com maior atividade antioxidante foi BRS magna com $27,41 \pm 2,77$ %. Para cinzas não houve diferença significativa entre os frutos das videiras. Para umidade, a variedade que apresentou maior perda de massa foi a BRS magna com $82,73 \pm 0,91$ % para as frutas, já o suco não houve diferença significativa entre as videiras. Por conseguinte, todas as cultivares estudadas possuem potencial para retardar a oxidação das moléculas podendo exercer um importante papel na neutralização dos radicais livres.

Palavras-chave: *Vitis* spp.; uva; radicais livres.

ABSTRACT

The objective of this work was to evaluate the content of flavonoids, ash and moisture, as well as the antioxidant activity by the 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl (DPPH) method and chelating ability in fruits and juice of cultivars BRS Violeta, BRS Magna and Isabel precocious. In the statistical analysis of the results, a variance (ANOVA) at 5% probability was used, by the Tukey test. By spectrophotometric methods of juices of the variety BRS Violeta dissipated the best results for the analysis of flavonoid compounds with 204.54 ± 31.69 mg EQ L⁻¹ (mg equivalent of quercetin per liter). Juices of the Isabel precocious and BRS magna varieties had the main antioxidant activity in the DPPH method, 0.334 absorbance for early Isabel and 0.334 absorbance for BRS magna. Already chelating ability, a grape with greater antioxidant activity than BRS magna with 27.41 ± 2.77 %. For ash there was no significant difference between the vine fruits. For moisture, the variety that showed the greatest loss of mass was BRS magna with 82.73 ± 0.91 % for fruits, while the juice did not show any significant difference between the vines. Therefore, all cultures studied have the potential to delay the oxidation of molecules, and may play an important role in the neutralization of free radicals.

Keywords: *Vitis* spp.; grape; free radicals



1 INTRODUÇÃO

Existem várias técnicas utilizadas para a determinação da qualidade da uva, tais como avaliação de acidez, pH, teor de ácido tartárico e atividade antioxidante. O presente trabalho busca determinar o teor de flavonoids e a atividade antioxidante pelos métodos DPPH e habilidade quelante nos frutos e/ou no suco das cultivares BRS Violeta, BRS Magna e Isabel precoce, além do teor de umidade e cinzas.

Os radicais livres presentes nos humanos são produzidos no organismo de forma natural e atuam no corpo mesmo sendo átomos/moléculas altamente reativas. Desta forma, interagem com os compostos polifenóis presentes nas uvas evitando maiores danos à saúde. Outros fatores que influenciam na formação de radicais livre são poluição, tabagismo e radiação, podendo desenvolver diversas patologias. Para tentar reverter a oxidação, existem substâncias antioxidantes que retardam a velocidade da oxidação, impedindo os radicais livres e diminuindo a probabilidade de doenças (VAGAS et al., 2008).

De acordo com Silva (2010), o processo de síntese de compostos fenólicos ocorrem quando as videiras são submetidas ao estresse biótico (defesa patogênica) ou abiótico (temperaturas extremas, déficit hídrico, radiação ultravioleta, etc.). Assim, ocorre o aumento das enzimas responsáveis pela biossíntese de flavonoides para uma possível proteção do DNA. (ABE et al., 2007). Com a identificação dos benefícios que a fruta apresenta, o consumidor irá consumi-la de forma mais consciente e regular, pois compreende sobre as vantagens como: prevenção do envelhecimento celular, prevenção de doenças degenerativas e colaboração com o sistema cardiovascular. Qual a variedade de uva e suco de uva possui maior capacidade de atividade antioxidante?

2 MÉTODO

Matéria-Prima. As amostras de frutos e suco de uva foram obtidas a partir de plantas das cultivares Isabel precoce, BRS Violeta e BRS Magna, conduzidas através do sistema Espaladeira Dupla Descendente. Após a detecção de maturação, avaliada através do teor dos sólidos solúveis ($^{\circ}$ Brix), os cachos foram colhidos manualmente. O processo de extração do suco foi feito por arraste de vapor, através da panela suqueira, sequencialmente, engarrafado em recipientes de vidro para a realização das análises.

Flavonoides. No preparo de reagente, o cloreto de alumínio 5% foi adicionado juntamente com 5g do sal em 100 mL de metanol sob agitação magnética constante, apenas o sobrenadante da solução foi utilizado (BOROSKI et al.2015). Adicionou-se 500 μ L de extrato preparado em etanol/suco, 250 μ L da solução de cloreto de alumínio 5% e 4,25 mL de metanol. À vista disso, realizou-se agitação dos tubos e, em uma temperatura ambiente após 30 minutos, feita leitura de absorbância em espectrofotômetro a 425 nm. O branco foi preparado nas mesmas condições trazidas acima, entretanto, adicionou-se etanol no lugar da amostra de uva ou água destilada para os sucos. Todo o experimento foi sob proteção da luz. A absorbância foi lida pelo espectrofotômetro UV-Vis com um comprimento de onda de $\lambda = 425\text{nm}$.

DPPH. A partir da metodologia original de Brand-Williams (1995) com modificações realizadas por Boroski et al. (2015), primeiramente, pesou-se na balança analítica 4,7 mg de DPPH e dissolvido em balão volumétrico de 100 mL com metanol, esta solução não pode ser armazenada para uso posterior. Subsequentemente, pipetou-se nas cubetas 100 μ L da solução da amostra, em triplicata e com proteção da luz, adicionados 3,0 mL da solução metanólica do radical DPPH e após 30 minutos realizada a leitura da absorbância no equipamento espectrofotômetro UV-Vis com comprimento de onda de 517nm.

Habilidade Quelante. Conforme descrito por Stookey (1970) com modificações de acordo com Boroski et al. (2015). Inicialmente foi realizado a limpeza de todo o material utilizado para torná-los isentos de ferro, feita a descontaminação com HNO_3 a 5% e posteriormente lavando com água deionizada e detergente



neutro. As soluções para a análise foram preparadas no dia, para o preparo da solução de FeCl_2 (pesou-se 0,34976g de cloreto de ferro 2 para um balão de 50 mL, completado com água deionizada) e para a solução de ferrozina (pesou-se 0,0246g para o balão de 10 mL, diluído em água deionizada). Posteriormente iniciou-se a análise pela adição de 0,1 mL da amostra e 3,6 mL de solvente que a amostra foi preparada, em um tubo falcon com tampa embrulhado em papel alumínio, em seguida foi adicionado 0,1 mL de FeCl_2 a 2 mmol L^{-1} e feita a leitura em espectrofotômetro UV-vis (PG INSTRUMENTS modelo T80+) na absorvância de 562 nm, representando a amostra (A0).

Umidade. Inicialmente, submeteu-se cadinhos de porcelana durante 2h a 105°C e foi anotado a massa, em seguida, pesou-se cerca de 2g de uva e 3g de suco de uva em cápsula de porcelana, previamente tarada. Para as análises dos sucos foram adicionados aos cadinhos de porcelana areia previamente seca, em quantidade suficiente para cobrir as 3g de amostra. Aqueceu durante 8 horas a 105°C e resfriou em dessecador até a temperatura ambiente, por fim, realizou-se a pesagem final (IAL,2005).

Cinzas. Pesou-se cerca de 2g de uva em uma cápsula de porcelana, posteriormente, foi adicionada na mufla durante 4 horas a 550°C , a temperatura foi aumentada gradativamente. Por fim, foi resfriada em dessecador até a temperatura ambiente e pesada (IAL, 2005).

Análise estatística. Utilizou-se a análise de variância (ANOVA) a 5% de probabilidade, pelo teste de Tukey, através do software Estatística, versão 7.0.

3 RESULTADOS

O teor de flavonoides para os sucos apresentaram diferença significativa (Tabela 1). O maior teor de flavonoides totais foi encontrado na BRS Violeta com $204,54 \pm 31,69 \text{ mg EQ L}^{-1}$, diferindo das demais cultivares. No estudo de Paiva (2018), a cultivar que obteve o melhor resultado foi a BRS Violeta com $35,17 \text{ mg } 100 \text{ g}^{-1}$. As atividades bioquímicas dos flavonoides está relacionada com sua estrutura química, que varia com a substituição das hidrogenações, hidroxilações, metilações, entre outros (MACHADO, 2008).

Pode-se observar na tabela 2, a atividade antioxidante das variedades do suco, onde a variação foi expressa em relação à absorvância, sendo que uma maior absorvância indica menor atividade antioxidante. Os níveis de atividade antioxidante foram maiores para as uvas da variedade Isabel Precoce e BRS Magna.

Tabela 1- Teor de compostos flavonoides em amostras do suco das cultivares Isabel precoce, BRS Violeta e BRS Magna.

Variedade de uva	Magna.	
	Flavonoides mg EQ L^{-1}	
	Suco	
Isabel Precoce	$101,80 \pm 11,54^a$	
BRS Violeta	$204,54 \pm 31,69^b$	
BRS Magna	$123,47 \pm 13,64^c$	

*Médias seguidas de letras diferentes na coluna indicam diferença significativa ($P < 0,05$).

Fonte: Autoria própria (2021).

Tabela 2-Atividade antioxidante em amostras do suco das cultivares Isabel precoce, BRS Violeta e BRS Magna.

Variedade de uva	DPPH	
	Suco	
Isabel Precoce	$0,334 \pm 0,065^a$	
BRS Violeta	$0,478 \pm 0,036^b$	
BRS Magna	$0,334 \pm 0,081^a$	

*Médias seguidas de letras diferentes na coluna indicam diferença significativa ($P < 0,05$).

Fonte: Autoria própria (2021).



O estudo de Vedana (2008), analisou as uvas da cultivar Isabel Precoce e três sucos comerciais de diferentes supermercados, onde observaram uma correlação entre os métodos DPPH e fenólicos totais de $R^2 = 0,5406$, e não observaram correlação da atividade antioxidante com a quantidade de antocianinas totais. De acordo com Burin et al (2010), a atividade antioxidante das uvas e sucos são influenciadas pela composição fenólica, sendo que a correlação entre os métodos obtidos no estudo foi de $R^2 = 0,9566$ entre DPPH e teor de flavonoides. Burin et al (2010) afirma também, que em sucos produzidos das cultivares *Vitis labrusca* a atividade biológica é influenciada por vários fatores incluindo o método agrícola utilizado. Para o presente estudo, observou-se uma correlação negativa de $-0,9798$ entre o teor de flavonóides e DPPH, indicando fortemente que outros compostos bioativos são os maiores responsáveis pela atividade antioxidante nessas amostras, e não os flavonoides.

A ferrozina na presença de Fe^{2+} possui um complexo vermelho que permite a leitura na faixa de 550 nm. Com a habilidade quelante da amostra, há menor quantidade de íons ferrosos e acaba diminuindo a formação de complexo com a ferrozina e a absorbância. Nos alimentos, os íons ferrosos são os mais fortes pró-oxidantes entre os metais de transição, porque são capazes atuarem como catalisadores de reações que possuem a formação de radicais livres e modificarem H_2O_2 (peróxido de hidrogênio) em OH^+ (PONTES, 2014). A variedade que mais apresentou quelação do íon ferroso foi a BRS Magna com 27,41% (Tabela 3) e a habilidade quelante do EDTA foi de $56,62 \pm 1,53$ %.

Independentemente do método de industrialização, todos os alimentos contêm água em maior ou menor proporção. Normalmente a umidade indica a água presente no alimento, que são classificadas como: umidade de superfície, refere-se à água presente na superfície externa do alimento com rápida evaporação, e umidade absorvida, que é a água encontrada no interior do alimento, sem ocorrer reações químicas com o mesmo. No entanto, a umidade significa a perda de peso sofrida pelo produto quando sofre um aquecimento em condições nas quais a água é removida. Não é apenas a água que ocorre a evaporação, mas também ocorre com outras substâncias que se volatilizam nessas mesmas condições (IAL, 2005).

Tabela 3- Habilidade quelante em amostras do fruto das cultivares Isabel precoce, BRS Violeta e BRS Magna. Santa Tereza do Oeste, 2021.

Variedade de uva	Habilidade Quelante %
	Fruta
Isabel Precoce	10,58±0,87 ^a
BRS Violeta	5,14±0,22 ^b
BRS Magna	27,41±2,77^c

*Médias seguidas de letras diferentes na coluna indicam diferença significativa ($P < 0,05$).

Fonte: A autoria própria (2021).

De acordo com a Tabela 4, a variedade que apresentou maior perda de massa foi a BRS Magna com $82,73 \pm 0,91$ % para as frutas. De acordo com Nishiyama (2016), o resultado de umidade para a BRS Magna foi de $73,69\% \pm 1,55\%$, essa diferença pode ser por diversos fatores como: forma de armazenamento, plantio, solo etc. No entanto, para os sucos não houve diferença significativa entre as videiras.



Tabela 4- Umidade em amostras do fruto e do suco das cultivares Isabel precoce, BRS Violeta e BRS Magna.

Variedade de uva	Umidade (%)	
	Fruta	Suco
Isabel Precoce	77,60±0,85 ^a	87,79±1,37 ^a
BRS Violeta	75,35±7,35 ^b	87,85±2,87 ^a
BRS Magna	82,73±0,91 ^c	86,68±2,48 ^a

*Médias seguidas de letras diferentes na coluna indicam diferença significativa (P<0,05).

Fonte: A autoria própria (2021).

A quantidade de cinzas encontradas nos frutos não indicou diferenças significativas entre as videiras (Tabela 5). De acordo com Tavares (2020), o valor encontrado para BRS Magna foi de 3,27% e nos resultados obtidos no presente trabalho foi bem abaixo do esperado, possivelmente por conta do procedimento da análise.

Tabela 5- Cinzas em amostras do fruto das cultivares Isabel precoce, BRS Violeta e BRS Magna.

Variedade de uva	Cinzas %
	Fruta
Isabel Precoce	0,73±0,12 ^a
BRS Violeta	1,94±1,26^a
BRS Magna	1,12±0,40 ^a

*Médias seguidas de letras diferentes na coluna indicam diferença significativa (P<0,05).

Fonte: A autoria própria (2021).

4 CONCLUSÃO

A variedade de uva que mais se destacou para a habilidade quelante foi a BRS Magna, assim como, para a atividade antioxidante pelo método DPPH, juntamente com a variedade Isabel precoce. Quanto ao teor de flavonoides, a variedade Violeta apresentou maior teor no suco. Dessa forma, todas as cultivares estudadas possuem potencial para retardar a oxidação das moléculas, tendo função extremamente importante na neutralização dos radicais livres.

AGRADECIMENTOS

Agradeço à UTFPR, IDR-PR, CNPq, Laboratório Multiusuário- LABCA do Campus Toledo pela oportunidade de ter realizado este trabalho. Agradeço as minhas orientadoras Dr^a. Alessandra Maria Detoni e Dr^a. Solange Maria Cottica por todo o apoio durante a realização deste trabalho. Agradeço, sobretudo, minha família que sempre me fortaleceu.

REFERÊNCIAS

ABE, L.T.; DA MOTA R.; LAJOLOI F. M.; GENOVESEI M. I. Compostos fenólicos e capacidade antioxidante de cultivares de uvas *Vitis labrusca* L. e *Vitis vinifera* L. **Ciê. Tecnol. Aliment**, Campinas, SP, 2007. Disponível em: <https://www.scielo.br/pdf/cta/v27n2/31.pdf>. Acesso em: 25 de jun 2021.



BOROSKI, Marcela; VISENTAINER, Jesuí Vergílio; COTTICA, Solange Maria; MORAIS, Damila Rodrigues. Antioxidantes princípios e métodos analíticos. Curitiba: **Editora Appris**, 2015. Acesso em 6 de jan. 2021.

BRAND-WILLIAMS, Wendy; CUVELIER, Marie Elisabeth; BERSET, Claudette. Use of a free radical method to evaluate antioxidant activity. **Lebensmittel-Wissenschaft-und-Technologie**, v.28, p. 25-30, 1995.

BURIN, Vivian Maria; FALCÃO, Leila Denise; GONZAGA, Luciano Valdemiro; FETT, Roseane; ROSIER Jean Pierre; BORDIGNON-LUIZ, Marilde Terezinha. Colour phenolic content and antioxidant activity of grape juice. **Ciênc. Tecnol. Aliment.**, Campinas, Campinas, SP, 2010. Disponível em: https://www.scielo.br/scielo.php?pid=S0101-2061201000040030&script=sci_arttext. Acesso em: 12 de jun. 2021

INSTITUTO ADOLFO LUTZ (IAL). **Métodos físico-químicos para análise de alimentos**. 4 ed. Brasília: ANVISA, 2005.

MACHADO, Hussen; NAGEM, Tanus Jorge; PETERS, Vera Maria; OLIVEIRA, Tânia Toledo. Flavonóides e seu potencial terapêutico. **Boletim do Centro de Biologia da Reprodução**, Minas Gerais, 2008. Disponível em: <file:///C:/Users/maiar/Downloads/17024-Texto%20do%20artigo-72257-1-10-20100329.pdf>. Acesso em 26 de jun. 2021.

NISHIYAMA, Yara Paula Oliveira. **Composição fenólica das partes comestíveis das uvas BRS Carmem e BRS Magna**. Dissertação (Mestrado em Ciência dos Alimentos) - Universidade Estadual Paulista, São José do Rio Preto, 2016.

PAIVA, Ana Paula Maia. **Fenologia, produção e qualidade de uvas para processamento**. Tese (Doutorado em Agronomia) - Universidade Estadual Paulista, Botucatu, 2018.

PONTES, Paula Virginia Almeida. **Estudo dos compostos fenólicos, potencial antioxidante e perfil dos ácidos graxos presentes em bagaço de uva da variedade cabernet sauvignon**. Trabalho de conclusão de curso (Engenharia de Alimentos), Universidade Tecnológica Federal do Paraná, Campo Mourão, 2014.

SILVA, Anna Débora Ferreira. **Análise de compostos fenólicos e potencial antioxidante de amostras comerciais de sucos de uva e produtos derivados de uvas vinícolas**. Dissertação (Mestrado em Ciência e Tecnologia de alimentos) – Universidade Federal da Paraíba, João Pessoa, 2010.

STOOKEY, Lawrence L. **Ferrozine – A new Spectrophotometric reagent for iron**. Analytical chemistry, v. 42, n.7, p. 779-781, 1970.

TAVARES, Pedro; NASCIMENTO, Renata; ANDRADE, Roberta; MARQUES, Aline; DRUZIAN, Janice; SOUZA, Carolina. Physicochemical characterization of agro-industrial waste from 'BRS Magna' grape cultivar. **Inovação e Tecnologia na Gastronomia**, Pernambuco, 2020. Disponível em: https://www.alice.cnptia.embrapa.br/bitstream/doc/1127018/1/Physico_chemical-characterization-2020.pdf. Acesso em 06 de jan. 2021.

VEDANA, Maria Isabel Simczak. **Efeito do processamento na atividade antioxidante da uva**. Dissertação (Mestrado em Tecnologia de Alimentos) – Universidade Federal do Paraná, 2008.