

AValiação DO TEOR DE RESVERATROL E DA ATIVIDADE ANTIOXIDANTE DE SUCO DE UVA BORDÔ

Éricles Forrati Machado¹; Júlia Kubaszewski Nunes²; Aline Ferreira Ourique³

RESUMO

O presente trabalho teve como objetivo desenvolver um método analítico para quantificar o teor de resveratrol presente em um suco de uva bordô e avaliar a sua capacidade antioxidante. A quantificação de resveratrol no suco foi determinada por Cromatografia Líquida de Alta Eficiência (CLAE) e a atividade antioxidante foi avaliada através do ensaio de sequestro do radical DPPH. O método utilizado para a quantificação de resveratrol no suco demonstrou-se eficiente na quantificação do composto bioativo, apresentando um teor de resveratrol de 0,2 mg por mL de suco. O ensaio por DPPH demonstrou que o suco possui uma alta capacidade antioxidante. Diante disso, conclui-se que o método utilizado foi linear para a quantificação do teor de resveratrol na matriz do suco (R^2 0,99), onde o mesmo apresentou um elevado teor de resveratrol, o que corrobora com a alta capacidade antioxidante também demonstrada neste trabalho, assim destacando-se como uma excelente opção de bebida com propriedades antioxidantes e funcionais.

Palavras-chave: Resveratrol; Compostos bioativos; Alimentos funcionais.

Eixo Temático: Atenção Integral e Promoção à Saúde (AIPS)

1. INTRODUÇÃO

Nos últimos anos, os consumidores preocupados com a saúde, estão cada vez mais buscando alimentos funcionais num esforço para melhorar sua saúde e o bem-estar. Essa busca se dá pelo interesse no papel que eles desempenham na promoção de saúde, sendo classificados como partes de alimentos ou ingrediente que além de suas funções nutricionais básicas, produzem efeitos metabólicos e/ou fisiológicos benéficos à saúde (SANTOS, 2011; BRASIL, 1999).

Os sucos também podem ser classificados como funcionais, desde que em sua composição, possuam ingredientes que forneçam alguma propriedade fisiológica específica (FREITAS, 2000). Esse mercado está em constante crescimento nos últimos anos, acompanhando a tendência mundial de consumo de

¹ Autor/Apresentador - Instituição do(s) autor(es) e-mail(s).

² Demais Autores - Instituição do(s) autor(es) e-mail(s).

bebidas saudáveis e saborosas (RITSCHER et al., 2018).

Muitos alimentos funcionais possuem em sua composição compostos bioativos, esses compostos são substâncias não nutrientes que possuem ação metabólica ou fisiológica específica (ANVISA, 2013). Dentre os compostos bioativos mais estudados destaca-se o resveratrol, uma fitoalexina polifenol de origem vegetal, pertencente à família estilbenoide e encontrado principalmente nas uvas. Apesar da principal fonte alimentar do resveratrol ser as uvas, as que são utilizadas para elaboração de sucos possuem um menor teor de resveratrol do que as uvas destinadas para a produção de vinho, o que acaba prejudicando os abstêmios que querem ingerir esse composto (AMARAL et al., 2018).

O resveratrol vem sendo muito estudado pelo seu potencial papel na promoção de saúde da população, pois esse composto bioativo possui ação antioxidante, anticancerígena, anti-inflamatória, cardioprotetora e neuroprotetora (KIM et al., 2007; THUC et al., 2012; BÖRZSEI et al., 2022). Dentre as características mais estudadas destaca-se o seu potencial antioxidante, essa atividade está relacionada a capacidade que esse composto tem de eliminar espécies reativas de oxigênio (ERO), proporcionando um efeito protetor contra a peroxidação lipídica e danos no DNA causados por ERO (LEONARD, 2003).

Diante disso, esse trabalho teve como objetivo desenvolver um método para quantificar o teor de resveratrol presente em um suco de uva bordô produzido em Santa Maria e avaliar a sua capacidade antioxidante.

2. METODOLOGIA

O resveratrol que foi adquirido comercialmente na farmácia de manipulação Farma Trat (Santa Maria – RS), o suco de uva 100% bordô foi fornecido por empresa local. Já os demais materiais e equipamentos utilizados no desenvolvimento deste trabalho foram fornecidos pelo laboratório de Nanotecnologia da Universidade Franciscana.

2.1 QUANTIFICAÇÃO DE RESVERATROL NO SUCO

A quantificação de resveratrol no suco de uva foi avaliada por Cromatografia Líquida de Alta Eficiência (CLAE). Para identificar o resveratrol na matriz do suco o

mesmo foi enriquecido com padrão de resveratrol na sua forma livre em várias concentrações, as condições cromatográficas foram as mesmas utilizadas para quantificar o resveratrol na forma livre, utilizando o método previamente validado de acordo com Coradini et al (2014) com algumas modificações. A fase móvel utilizada foi composta de metanol: água (60/40, v/v) a pH 3,0 ajustado com ácido acético, a taxa de fluxo foi de 0,4 ml/min, temperatura do forno a 39°C e o comprimento de onda de detecção utilizado foi de 306 nm.

No preparo das amostras, os sucos passaram por centrifugação a 7000 rpm por 10 min, posteriormente foram diluídos em metanol (2:1) e passaram por uma nova centrifugação a 7000 rpm por 30 min, o sobrenadante foi coletado e diluído em água ultrapura (1:1) e em seguida as amostras foram filtradas em filtros de seringa com porosidade 0,45 e 0,22 µm. O padrão resveratrol foi preparado nas concentrações de 15, 25, 35, 45, e 55 µg/ml, de cada concentração foram pipetados 350 µl em 3 ml de suco previamente diluído e centrifugado. As amostras foram injetadas em CLAE nas condições cromatográficas pré-definidas.

2.2 AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE ANTIOXIDANTE

A atividade antioxidante do suco foi avaliada pelo método descrito por Brand-Williams, Cuvelier e Berset (1995) e atualizado por Roesler, et al. (2007). Essa técnica consiste na avaliação da capacidade da amostra de doar hidrogênio radical para o 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl (DPPH), provocando a redução deste radical livre e modificando a coloração da solução, da cor violeta para amarelo, posteriormente avaliado por meio de espectrofotômetro em comprimento de onda de 517 nm.

No preparo das amostras, os sucos passaram por centrifugação a 7000 rpm por 10 min, posteriormente diluídos em metanol (2:1) e passaram por uma nova centrifugação a 7000 rpm por 30 min, o sobrenadante foi coletado e diluído em água ultrapura (1:1) e em seguida as amostras foram filtradas em filtros de seringa com porosidade 0,45 e 0,22 µm. Os padrões de resveratrol e ácido ascórbico foram preparados nas concentrações de 1 mg por ml, utilizando metanol como solvente orgânico, para o enriquecimento do suco, foi adicionado 350 µl do padrão RESV em 2 ml de suco, com controle foram pipetados 350 µl dos padrões RESV e ácido

ascórbico em dois 2 ml de metanol, 400 µl de cada amostra foi pipeta em 2 ml de radical DPPH, agitada em vórtex, incubada por 30 min e posteriormente observada a sua absorvância em espectrofotômetro.

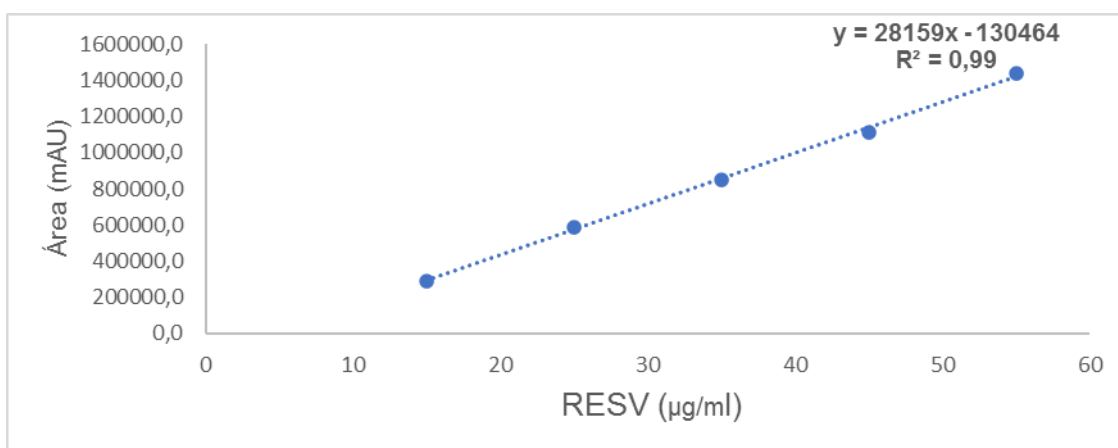
Para avaliar a capacidade antioxidante foi calculada a porcentagem de inibição do radical DPPH a partir dos dados de absorvância das amostras. Como comparativo foi utilizado uma solução padrão de ácido ascórbico, um antioxidante com atividade bem descrita e reconhecida, nas mesmas concentrações das amostras de suco livre, suco enriquecido e resveratrol livre.

3. RESULTADOS E DISCUSSÕES

3.1 QUANTIFICAÇÃO DE RESVERATROL NO SUCO

A partir do enriquecimento da amostra de suco de uva com um padrão de resveratrol foram construídas três curvas analíticas independentes com 5 concentrações de resveratrol incorporadas na matriz do suco para avaliar a linearidade do método proposto. Na figura 1 pode-se observar a curva analítica média de resveratrol, bem como, a equação da reta e o coeficiente de correlação.

Figura 1: Curva analítica média de Resveratrol na matriz alimentar

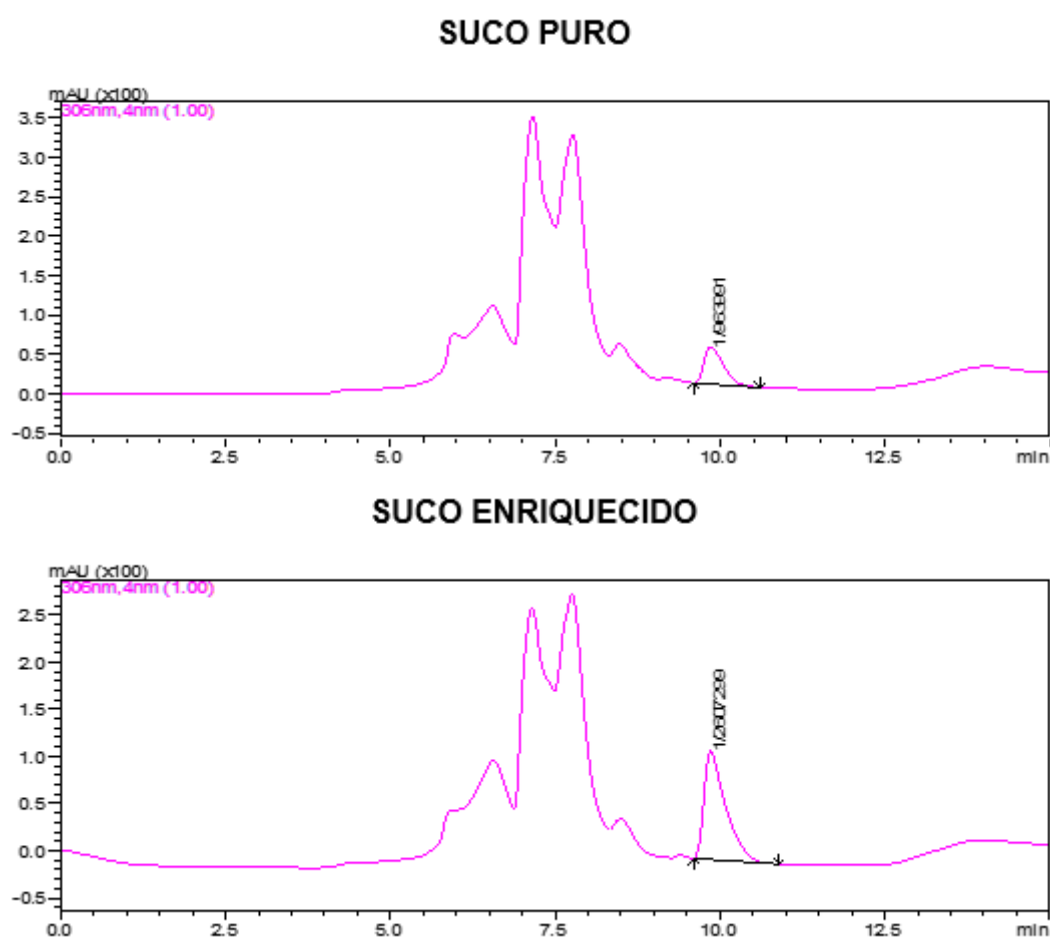


Como pode ser observado na figura 1 a curva média de resveratrol apresentou um coeficiente de correção (R^2) de 0,99 resultado que atende com o valor preconizado pela legislação brasileira para demonstrar a linearidade do método na determinação de um ativo (BRASIL, 2003). Segundo Skoog et al. (2006), quanto mais próximo o coeficiente estiver da unidade, melhor o modelo linear explica as variações de y e, portanto, podemos considerar que o modelo linear avaliado está de

acordo e se pode utilizar sua equação para determinação de concentrações de trans-resveratrol com áreas dentro do intervalo de 15 a 55 $\mu\text{g/mL}$.

A figura 2 apresenta dois cromatogramas que demonstram o pico de resveratrol em uma amostra de suco sem o enriquecimento e outra com o suco enriquecido com 55 $\mu\text{g/mL}$ de resveratrol.

Figura 2: Cromatogramas de suco puro e suco enriquecido com resveratrol



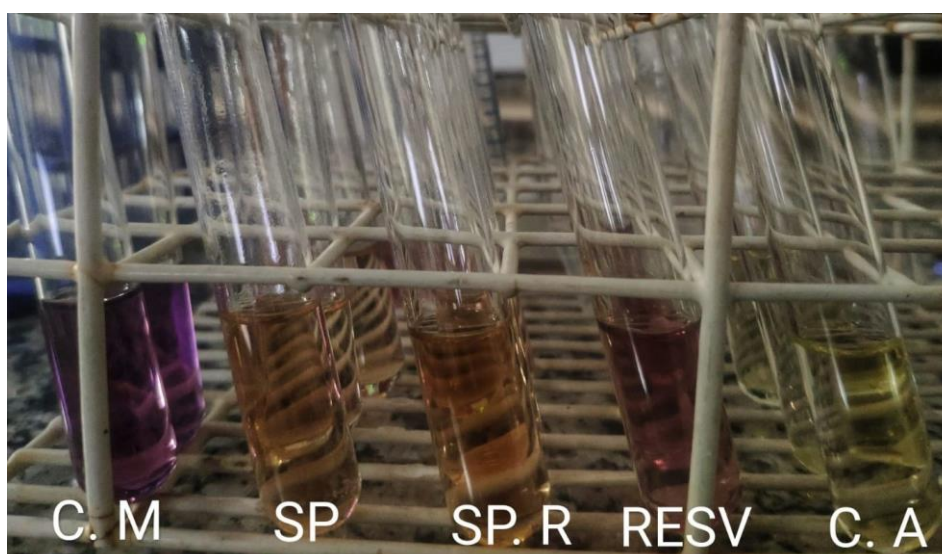
A partir desse resultado e utilizando a equação baseada nas curvas de resveratrol na matriz foi possível quantificar o teor de resveratrol presente no suco puro que foi de 0,2 mg de resveratrol por mL de suco. Freitas et al. (2010) analisaram os teores de resveratrol em sucos de uva obtidos das variedades Concorde e Rúbea produzidas nos sistemas orgânico e convencional em Maringá – PR, nesse estudo os sucos apresentaram teores de resveratrol que variaram entre 25 e 32 mg L^{-1} . Assim, os resultados relacionados ao teor de resveratrol encontrado

no suco da uva bordô utilizado nesse trabalho demonstram que o suco analisado apresenta um elevado teor de resveratrol na sua composição.

3.1 AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE ANTIOXIDANTE

Através do teste com DPPH foi possível avaliar quantitativamente a atividade antioxidante do suco de uva por meio da capacidade de sequestrar radicais livres. Para fins comparativos amostras de ácido ascórbico, resveratrol livre, suco enriquecido com resveratrol e um controle branco com metanol foram analisadas para possibilitar uma maior clareza dos resultados. Na figura 3 podemos observar as amostras provocando a redução deste radical livre e modificando a coloração da solução.

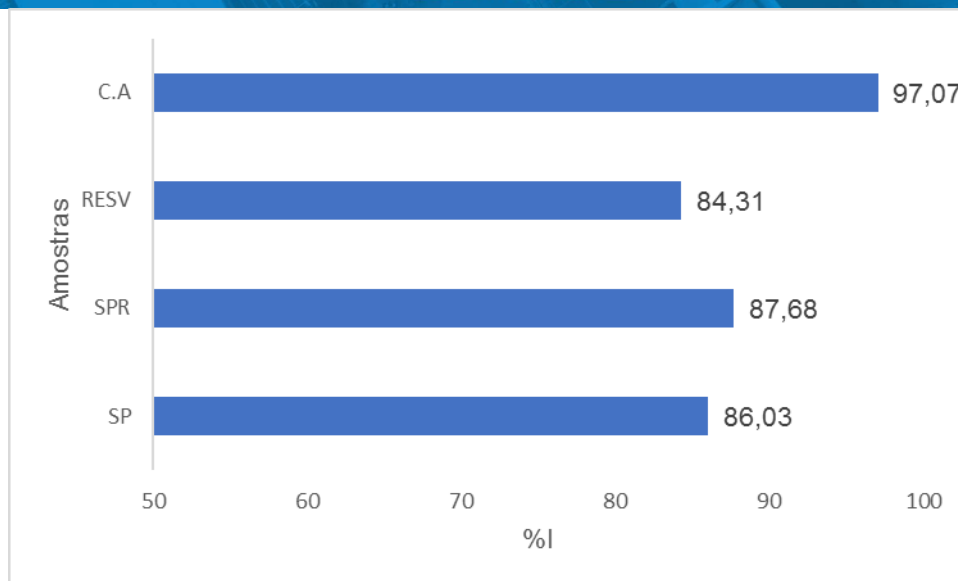
Figura 3: Reação das amostras com o radical DPPH



C.M – Controle com metanol; SP – Suco puro; SP.R – Suco enriquecido com resveratrol; RESV – Padrão resveratrol; C.A – Controle Ácido ascórbico.

Como pode ser visto na figura 3, conforme a amostra foi reagindo com o radical a coloração foi sendo alterada do violeta (controle C.M) para o amarelo (controle C.A). No gráfico 1 encontram-se os resultados de atividade antioxidante por porcentagem de inibição (%I) do radical DPPH.

Tabela 1: Atividade antioxidante por %I



Como podemos observar no gráfico 1, o suco puro apresentou uma alta capacidade de redução desse radical livre, proporcionando um %I de cerca de 86% do radical. Almeida et al. (2022) avaliaram a atividade antioxidante de suco de uva tinta, branca e bordô pelo método DPPH, nesse estudo a uva que apresentou maior capacidade antioxidante foi a uva Bordô, com 89% de %I, corroborando com os nossos resultados. Esses resultados são bem superior ao das outras variedades de suco, onde o suco de uva tinta apresentou 56% de %I e a uva branca apenas 7% de %I.

Os resultados desse estudo apontam que o suco de uva bordô apresentou uma alta capacidade antioxidante, principalmente quando comparado ao padrão ácido ascórbico. Essa atividade antioxidante do suco pode estar relacionada a sua composição, onde estão presentes diversos compostos com potencial antioxidante, tais como antocianinas, taninos e o próprio resveratrol que está presente nesse suco (POZZAN, BRAGA, SALIBE, 2012).

4. CONCLUSÃO

Diante disso, conclui-se que o método utilizado se demonstrou linear na quantificação de resveratrol presente no suco de uva bordô produzido em Santa Maria, onde o mesmo apresentou um elevado teor desse composto bioativo, o que corrobora com a alta capacidade antioxidante do suco também demonstrada nesse

trabalho, assim destacando-se como uma excelente opção de bebida com propriedades antioxidantes.

AGRADECIMENTOS

Programa de Pós-Graduação em Nanociências, Universidade Franciscana e CAPES.

REFERÊNCIAS

ALMEIDA, Thalita Rayanne Silva; RIBEIRO, Allan Bezerra; COSTA, José de Ribamar Macedo. Avaliação do potencial antioxidante de sucos de uva integral de diferentes tipos de uvas Evaluation of the antioxidant potential of integral grape juices of different types of grapes. **Brazilian Journal of Development**, v. 8, n. 5, p. 40132-40138, 2022.

AMARAL, L. A. et al. Efeitos da suplementação de resveratrol na saúde humana: uma revisão integrativa. **Visão Acadêmica**, v. 19, n. 3, 2018.

ANVISA. Agência Nacional de Vigilância sanitária. **Guia para Comprovação da Segurança de Alimentos e Ingredientes**. Fevereiro, 2013.

BÖRZSEI, Denise et al. Resveratrol as a Promising Polyphenol in Age-Associated Cardiac Alterations. **Oxidative Medicine and Cellular Longevity**, v. 2022, 2022.

BRAND-WILLIAMS, W.; CUVELIER, M. E.; BERSET, C. Use of a free radical method to evaluate antioxidant activity. **LWT - Food Science and Technology**, v. 28, n. 1, p. 25 – 30, 1995.

BRASIL. Ministério da Saúde. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Portaria nº 398, de 30 de abril de 1999c. Estabelece as diretrizes básicas para análise e comprovação de propriedades funcionais e ou de saúde alegadas em rotulagem de alimentos. 1999.

BRASIL. **Guia para validação de métodos analíticos e bioanalíticos**. Brasília - DF, 2003.

CORADINI, K. et al. Co-encapsulation of resveratrol and curcumin in lipid-core nanocapsules improves their in vitro antioxidant effects. **European journal of pharmaceutics and biopharmaceutics**, v. 88, n. 1, p. 178-185, 2014.

FREITAS, D. G. C. Efeito da adição de pectina e frutooligossacarídeo como ingredientes funcionais no suco misto de laranja e cenoura. 2000, 123 f. Dissertação (Mestrado em Tecnologia de Alimentos) – Universidade Estadual de Campinas, 2000.

FREITAS, A. A, et al. Determinação de resveratrol e características químicas em sucos de uvas produzidas em sistemas orgânico e convencional. **Revista Ceres**, v. 57, p. 1-5, 2010.

KIM, Y. A.; KIM, G. Y.; PARK, K. Y.; CHOI, Y. H. Resveratrol inhibits nitric oxide and prostaglandin E2 production by lipopolysaccharide-activated C6 microglia. **Journal of Medicinal Food**, v. 10, p. 218-224, 2007.

LEONARD, S. S. et al. Resveratrol scavenges reactive oxygen species and effects radical-induced cellular responses. **Biochemical and biophysical research communications**, v. 309, n. 4, p. 1017-1026, 2003.

POZZAN, M. S. V., BRAGA, G. C., SALIBE, A. B. Teores de antocianinas, fenóis totais, taninos e ácido ascórbico em uva 'bordô' sobre diferentes porta-enxertos. **Rev. Ceres, Viçosa**, v. 59, n.5, p. 701-708, 2012.

RITSCHER, P. S. et al. A viticultura e a agroindústria de suco de uvas americanas em um mercado em crescimento. **Embrapa Uva e Vinho-Artigo em periódico indexado (ALICE)**, v. 9, n. 1, p. 1-13, 2018.



ROESLER, R. et al. Atividade antioxidante de frutas do cerrado. **Food Science and Technology** (Campinas), scielo, v. 27, n. 3, p. 53 – 60, 2007.

SANTOS, F. L. Os alimentos funcionais na mídia: quem paga a conta. **EDUFBA**, v. 1, n. 1, p. 199-210, 2011.

SKOOG, D. A. et al. **Fundamentos de Química Analítica**. São Paulo: Pioneira Thomson Learning, 2006.

THUC, L. C. et al. Inhibition of $\text{Na}^{+}\text{-H}^{+}$ exchange as a mechanism of rapid cardioprotection by resveratrol. **British Journal of Pharmacology**, v. 166, n. 6, p. 1745–1755, 2012.