**COMPARAÇÃO DO TEOR DE FENÓLICOS TOTAIS E DA AÇÃO ANTIOXIDANTE DE SUCOS INDUSTRIALIZADOS DE UVA E DE VINHOS TINTO**

**Resumo:** Os benefícios do consumo diário de vinho tinto já são bem conhecidos e descritos, e incluem a diminuição da probabilidade de ocorrência de doenças coronárias e de complicações cardiovasculares. Atribui-se esta ação benéfica e “protetora” à presença de compostos flavonoides encontrados na casca da uva (*Vitis vinifera*), principalmente antocianidinas e do derivado fenólico resveratrol. Apesar disto, o vinho é caracterizado por apresentar entre 5 a 12% de álcool e o seu consumo diário pode trazer, juntamente aos benefícios cardíacos grandes prejuízos à saúde. O presente trabalho objetivou verificar se o consumo frequente de suco de uva tinto seria capaz de trazer os mesmos efeitos protetores do vinho tinto. Observou-se nestas análises que a atividade antioxidante dos vinhos amostrados foi superior a dos sucos. Não foi possível observar diferença significativa entre os teores de compostos fenólicos totais nas amostras de suco e de vinho. Uma vez que a atividade antioxidante está muito relacionada à proteção cardiovascular, conclui-se que o consumo do suco de uva tinto não é capaz de substituir o vinho em sua ação protetora.

**Palavras-chave:** Polifenóis, Vinho tinto, Suco de uva, Atividade Antioxidante.

**COMPARISON OF TOTAL PHENOLIC CONTENT AND ANTIOXIDANT ACTIVITY IN INDUSTRIALIZED GRAPE JUICE AND RED WINE**

**Abstract:** The benefits of the daily consumption of red wine are already known and well described, and it include the diminishment of the probability of coronary disease occurrence and derived cardiovascular complications. These “protector” benefits activities are attributed to the presence of flavonoids compounds found in the peel of the grape (*Vitis vinifera*), mainly anthocyanidines and the phenolic derivative, resveratrol. Beside these benefits, wine is characterized by the presence of 5% to 12% content of alcohol and your regular consumption may bring, together to the cardiac benefits, great injuries to the healthy. The present work aimed to evaluate whether regular consumption of red grape juice would be able to produce the similar protector effects of red wine. We observed that antioxidant activity of the sampled wines was superior of the juice activity. It was not possible to show significant difference between phenolic content of juice and wine. Once antioxidant activity is quite associated to the cardiovascular protection, we concluded here that the consumption of red grape juice is not able to substitute wine in its protective properties.

**Keywords**: Polyphenol, Red wine, Grape juice, Antioxidant activity.

**1. INTRODUÇÃO**

Os radicais livres são substâncias naturalmente produzidas pelo organismo, e desempenham importante papel para diversas funções orgânicas. Porém, o acúmulo destas substâncias, tanto por fatores externos quanto por fatores internos, resulta em estresse oxidativo, aumentando o risco de desenvolvimento de diversas patologias (HUANG; OU; PRIOR, 2005). Radicais livres são íons ou moléculas altamente reativas, contendo um elétron desemparelhado em sua última camada eletrônica, o qual confere alta reatividade a estas espécies.

No organismo, os radicais livres de oxigênio podem combinar com o DNA das células, alterando seu código genético e produzindo uma multiplicação celular desordenada. A reação dos radicais livres com os ácidos graxos, constituintes de óleos e gorduras, pode favorecer o depósito de placas nas paredes arteriais, diminuindo sua elasticidade e propiciando o aparecimento de hipertensão arterial (THOMAS; BALASUBRAMANIAN, 2004). Compostos antioxidantes, como certas vitaminas, enzimas e alguns sais minerais, são capazes de impedir a oxidação de outras substâncias por serem altamente instáveis e assim doarem elétrons com facilidade, de modo que se oxidam com maior facilidade que outros compostos em seu entorno. (BALASUNDRAM; SUNDRAM; SAMMAN, 2006)

Estudo clínico realizado em pacientes que sofreram infarto do miocárdio evidenciou que o consumo diário de duas taças de vinho tinto diminui a possibilidade de ocorrência de um segundo infarto ou de outras complicações cardiovasculares, quando comparado aos pacientes que não consumiram vinho (RENAUD; LORGERIL, 1992). O efeito do consumo de vinho sobre doenças cardiovasculares foi estudado por Black (1819), quando a expressão “paradoxo francês” foi primeiramente empregada. Este termo deriva da incompatibilidade existente entre a dieta altamente rica em gorduras da população francesa do século XIX, e o baixo índice de doenças cardíacas naquela população. O hábito dos franceses de ingerir vinho tinto diariamente durante as refeições estaria relacionado com a proteção contra problemas cardiovasculares.

Sabe-se que a uva apresenta diversas substâncias com proeminente atividade antioxidante, notoriamente os compostos polifenólicos, e entre eles, os flavonóides. Grande parte da estrutura e da cor dos vinhos deve-se a esta família de compostos que se encontram nas grainhas, na polpa e na película das uvas. De todos eles, as antocianinas, os flavano-3-ol e as proantocianidinas são os principais responsáveis pela cor dos vinhos, e quantitativamente os mais importantes (CABRITA; SILVA; LAUREANO, 2003). As proantocianidinas são compostos polifenólicos da classe dos taninos, que liberam os flavonóides antocianidinas, quando aquecidas em meio fortemente ácido e alcoólico, mediante a ruptura das ligações entre as unidades monoméricas (RICARDO DA SILVA, 1995).

A atividade antioxidante destes compostos tem sido atribuída como a responsável pelo efeito cardio-protetor observado pelo consumo diário de vinho (PIGNATELLI, PULCINELLI; CELESTINE, 2000).

Assim, este trabalho objetivou comparar o teor de compostos fenólicos e a atividade antioxidante de sucos de uva tinta e de vinhos tintos, a fim de verificar se as propriedades antioxidantes, e possivelmente cardioprotetoras, atribuídas ao consumo moderado de vinho tinto, podem também ser obtidas pelo consumo de suco de uva tinto, de modo a evitar a ingestão regular do álcool presente no vinho.

**2. METODOLOGIA**

**2.1 Materiais**

Três amostras de suco de uva tinto integral e três amostras de vinho tinto (cabernet sauvignon) foram adquiridas no mercado de acordo com sua disponibilidade na data da aquisição. A escolha da uva do vinho, cabernet sauvignon, se deu por ser amplamente consumida, de baixo custo, e disponível em várias marcas comerciais. Optou-se por manter uma única uva nos três vinhos para evitar grande variação nos teores de compostos fenólicos. As uvas que compõem os sucos não foram identificadas nos rótulos dos fabricantes.

O reagente de Folin-Ciocalteau (Sigma-Aldrich) foi adquirido da em solução a 2N. O composto DPPH (1,1-difenil-2-picril-hidrazila) foi obtido da Sigma-Aldrich e as análises espectrofotométricas realizadas em espectrofotômetro UV/VIS Lambda, da PerkinElmer.

**2.2 Métodos Analíticos**

2.2.1. Determinação de Compostos Fenólicos Totais.

O teor de fenólicos totais foi determinado empregando-se o método de folin-ciocalteau, de acordo com o descrito por (SINGLETON; ORTHOFER; LAMULA-RAVENTÓS, 1999).

Em balão volumétrico de 10 mL, adicionou-se 0,1 mL de amostra, 0,5 mL de reagente de Folin-Ciolcateau diluído (2N) e 4 mL de carbonato de sódio (Na2CO3) 7,5%. Completou-se o volume com água destilada e após duas horas leu-se a absorbância a 765 nm em espectrofotômetro. Preparou-se a curva analítica empregando-se o ácido gálico em solução aquosa nas concentrações de 50 a 500 mg/L, utilizando-se a mesma metodologia apresentada para as amostras. As concentrações de compostos fenólicos foram expressas como equivalentes em ácido gálico.

2.2.2. Determinação da Atividade Antioxidante.

A atividade antioxidante foi determinada pelo método do DPPH, o qual baseia-se na capacidade de compostos polifenólicos em sequestrar o radical DPPH (1,1-difenil-2-picril-hidrazila) em solução (KALLITHRAKAA et al, 2005).

Preparou-se uma solução metanólica de DPPH a 60 µM e diversas soluções metanólicas das amostras nas concentrações de 5, 10 e 20 µL de suco ou vinho por mL de metanol. Construiu-se uma curva concentração/efeito pela mistura vigorosa de 0,200 mL de cada solução-amostra de (sucos e vinhos) e 1,800 mL da solução de DPPH, sendo necessária a espera de 30 minutos antes da leitura da absorbância em espectrofotômetro a 516 nm. A absorbância medida foi convertida em concentração de DPPH através da construção da curva analítica, empregando-se soluções de DPPH nas concentrações 1, 5, 15, 25 e 35 µg/mL. A concentração eficaz para as amostras de suco e de vinho (EC50) foi determinada mediante a regressão linear da curva concentração/efeito.

2.2.3. Análise Estatística

Todos os ensaios foram realizados em triplicata. A equivalência de variâncias entre dois grupos estudados foi realizada pelo teste F e a significância entre as médias obtidas pelo teste T estatístico, empregando-se um nível de significância de 5%.

**3. RESULTADOS**

A determinação de compostos polifenólicos totais foi realizada segundo o método de Folin-Ciocaulteau. Neste método, o reagente de Folin-Ciocaulteau (RFC), que consiste na mistura dos ácidos fosfomolibídico e fosfotun­gstico, em que o molibdênio se encontra no estado de oxidação (VI), formando um complexo de cor amarela (Na2MoO4.2H2O), reage com compostos fenólicos, mas não de forma exclusiva, diminuindo seu estado de oxidação, e formando complexos de coloração azul com estes compostos. A atividade antioxidante ou redutora dos compostos fenólicos pode ser presumida, então, pela diminuição da absorbância característica do complexo inicial da solução (SINGLETON; ORTHOFER; LAMULA-RAVENTÓS, 1999).

Figura 1. Curva analítica de ácido gálico (R2=0,995)

A figura 1 traz a curva analítica obtida com o ácido gálico. Os teores encontrados para as amostras de suco e de vinho estão listados na tabela 1. Não foi possível observar diferença estatística (P>0,05) entre as amostras de suco e de vinho, indicando que não há variação no teor de compostos fenólicos totais entre eles.

Tabela 1 - Concentração de compostos fenólicos totais expressos em equivalentes de ácido gálico

|  |  |  |
| --- | --- | --- |
| *Amostra* | *Suco* | *Vinho* |
| IIIIII | 1258,9 mg/L1783,6 mg/L1532,9 mg/L | 1657,5 mg/L1889,0 mg/L1865,8 mg/L |
| Média | 1525,1 mg/L\* | 1804,1 mg/L\* |

 \* P> 0,05

Apesar de não ter sido observada diferença entre os teores de compostos fenólicos totais nas amostras de suco e de vinho, os resultados da atividade antioxidante mostram grande diferença entre os dois grupos.

A determinação da atividade antioxidante foi realizada pelo método do DPPH, o qual consiste em avaliar a atividade sequestradora de elétrons do radical 1,1-difenil-2-picril-hidrazila (DPPH), de cor púrpura, cuja absorbância encontra-se em 516 nm, ou seja, avalia-se a capacidade do DPPH ser reduzida. Assim, espera-se que o radical seja convertido a 1,1-difenil-2-picril-hidrazina (DPPH-H), de coloração amarela. Desta forma, na presença de substâncias capazes de sequestrar estes radicais, a absorção é inibida. A atividade antioxidante está relacionada, então, com o decréscimo da absorção em 516 nm de uma solução contendo DPPH (KALLITHRAKAA et al, 2005).

Baseado-se neste princípio prepararam as curvas concentração/efeito, com as amostras de suco de uva e com as amostras de vinho. Os resultados estão dispostos na tabela 2 e figura 2.

Tabela 2 - Concentração final de DPPH nas diversas amostras de suco e de vinho

Com base nestes resultados, traçou-se a curva concentração/efeito para sucos e vinhos conforme mostrado na figura 2. Ambas as curvas obtiveram elevado coeficiente de correlação (R2), calculado em 0,983 para as amostras de suco e 0,998 para as de vinho.

Figura 2. Curva concentração/efeito e EC50 para amostras de suco e de vinho.

O valor de EC50 foi calculado a partir das equações das retas obtidas. Para o cálculo, considerou-se a concentração inicial de DPPH nas soluções, equivalentes a 36 µg/mL e valor da EC50 quando a concentração de DPPH se igualar a 18 µg/mL. Com base nestes resultados, pode-se observar que, embora os teores de compostos polifenólicos totais não apresentem diferença significativa entre os dois grupos analisados (P>0,005), o vinho tinto apresentou uma atividade antioxidante duas vezes superior àquela determinada para o suco de uva.

**4. DISCUSSÃO**

A atividade protetora cardiovascular, atribuída ao consumo diário de vinho tinto, tem sido alvo de muita discussão. Pesquisas pontuais apresentam dados conflitantes quanto à atividade antioxidante relativa de sucos de uva tinto e de vinhos tinto, incluindo seus respectivos teores de compostos fenólicos totais (FRANKEL; NASH; SNYDER, 1987; SHAHIDI; WANASUNDARA, 1992.; VINSON; TEUFEL; WU, 2001).

Uma das ferramentas que se dispõe para avaliar *in vitro* esta propriedade biológica protetora é a medida da atividade antioxidante destas bebidas. Em geral, propriedades anticarcinogênicas, antiinflamatórias e antimicrobianas estão relacionadas à capacidade que os compostos fenólicos apresentam em eliminar radicais livres, o que, por sua vez, evita em certo grau, a oxidação de lipoproteinas, como o LDL (low density lipoprotein), agindo assim na prevenção de doenças vasculares (PEARSON et al., 1999; MARTÍNEZ-FLÓREZ et al., 2002; SZMITKO; VERMA, 2005).

Dentre os compostos polifenólicos existentes na casca da uva escura, encontra-se uma classe de flavonóides denominada antocianina, cuja presença, além de conferir a coloração característica destas uvas, apresenta forte associação a propriedades antiagregantes plaquetárias. Esta atividade, de acordo com Rechner e Kroner (2005) deve-se à capacidade destas substâncias de interferirem favoravelmente na síntese de eicosanóides em humanos, e assim inibirem a agregação plaquetária. A soma das atividades antioxidantes e antiagregante plaquetária explicaria, de certa forma, o fenômeno denominado “paradoxo Francês”, a partir do qual a proteção cardiovascular relacionada ao consumo do vinho tinto vem sendo estudada.

Segundo Dreosti (2000), os compostos fenólicos totais presentes em vinhos tintos variam, entre 1000 e 4000 mg/L, valores coerentes com o encontrado para as amostras de vinho aqui analisadas, 1804,1 mg/L, e também para amostras de suco de uva tinto, 1525,1 mg/L. Apesar desta pequena diferença entre as médias, não foi possível constatar uma diferença estatística entre os dois grupos de bebida (P>0,05). Esta aproximação entre os valores era esperada, visto que para a obtenção das duas bebidas, processos extrativos e fermentativos muito semelhantes estão envolvidos (SISTRUNK; GASCOIGNE, 1983; FRANKEL; NASH; SNYDER, 1987).

Entretanto, a atividade antioxidante avaliada para as amostras de suco e de vinho divergiram em mais de 100% no teste do DPPH. A 1,1-difenil-2-picril-hidrazila (DPPH) é um radical livre de excepcional estabilidade, o qual pode ser facilmente reduzido quando na presença de compostos capazes de deslocar elétrons, como os compostos fenólicos. Nesta situação, o DPPH é reduzido a DPPH-H e a diminuição de sua concentração pode ser acompanhada pela inibição da absorção em 516 nm. Assim, quando a concentração de DPPH é diminuída para um patamar igual a 50% da concentração inicial por causa da presença de um agente antioxidante, tem-se então a concentração eficaz 50% (EC50) deste agente, e este valor pode ser empregado para comparar as atividades de vários compostos (KALLITHRAKAA et al, 2005). Para as amostras de suco e de vinho obtiveram-se, respectivamente, valores de 47,8 µL/mL e 23,0 µL/mL, o que significa que é necessária uma concentração duas vezes maior de suco para corresponder à mesma eficácia antioxidante do vinho.

Esta avaliação da atividade antioxidante *in vitro* contrapõe-se às concentrações de compostos fenólicos encontradas, apesar da tendência observada do suco apresentar menor concentração de fenólicos que o vinho. Esta divergência pode ser explicada, em parte, pela presença de açúcares redutores nos sucos e nos vinhos. Estes açúcares interferem na avaliação do conteúdo de fenólicos totais determinado pelo método de Folin-Ciocalteau, resultando em concentrações mais elevadas destes compostos (SINGLETON; ORTHOFER; LAMUELA-RAVENTÓS, 1999). Uma vez que o suco de uva contém mais compostos fenólicos gli­cosilados do que o vinho (RICARDO DA SILVA, 1995), este maior teor nos sucos pode refletir em concentração falsamente elevada de compostos fenólicos totais.

Desta forma, a comparação única dos teores de compostos fenólicos totais e da atividade antioxidante de suco de uva tinto e de vinho tinto não se mostrou suficiente para uma análise conclusiva a respeito da atividade protetora cardiovascular.

A substituição do vinho pelo suco de uva é um tema que vem sendo bastante explorado, mas que até o momento não obteve um resultado conclusivo. Uma possível razão para este embate pode ser em decorrência da grande variedade de fatores que vão além da discussão da presença de um número restrito de classes de compostos fitoquímicos, e estende-se a diversos fatores que influenciam na absorção destes compostos. Um destes fatores é a própria presença de álcool no vinho, o qual atua como facilitador da absorção intestinal de compostos fenólicos por impedir sua precipitação (SERAFINI; MAIANI, FERRO-LUZZI, 1997). No entanto, outros autores discordam destes resultados, pois observam que em seus estudos, empregando-se o suco de uva e vinho tinto com ou sem álcool, as melhores atividades *in vivo* sobre a formação de aterosclerose foram encontradas para o grupo tratado com o suco, sem ser observada diferença com o grupo tratado com os vinhos (VINSON; TEUFEL; WU, 2001).

**5. CONCLUSÃO**

Considerando a maior atividade antioxidante determinada para as amostras de vinho, comparada às amostras de suco, conclui-se que, com relação aos benefícios à saúde como um todo, derivados da ação antioxidante, o consumo diário de suco de uva não substitui o consumo do vinho.

**6. REFERÊNCIAS**

BALASUNDRAM, N.; SUNDRAM, K.; SAMMAN, S. Phenolic compounds in plants and agri-industrial by-products: antioxidant activity, occurrence, and potential uses. **Food Chemistry**, v. 99, n. 1, p. 191-203, 2006.

BLACK, S., 1819, apud EVANS, A. Dr Black’s favourite disease. **Br. Heart F**., v. 74, p. 696-697, 1995

CABRITA, M. J; SILVA, J. R.; LAUREANO, O. Os compostos polifenólicos das uvas e dos vinhos. **Seminário Internacional de Vitivinicultura**, Ensenada, México, 2003. Disponível em: <http://utl.academia.edu/OlgaLaureano/Papers/275122/Os_Compostos_Polifenolicos_Das_Uvas_E_Dos_Vinhos>. Acesso em: 13 jul. 2011.

DREOSTI, I. E. Antioxidant polyphenols in tea, cocoa, and wine. **Nutrition**, v. 16, n.7-8, p. 692-4, Jul-Aug, 2000.

FRANKEL, E. N.; NASH, A. M.; SNYDER, J. M. A methodology study to evaluate quality of soybeans stored at different moisture levels. **Journal of the American Oil Chemists' Society**, v. 64, n. 7, p. 987-992, 1987.

HUANG, D.; OU, B.; PRIOR, R. L. The chemistry behind antioxidant capacity assays **J.Agric. Food Chem***.* v. 53, p. 1841-1856, 2005.

KALLITHRAKAA, S.; MOHDALYA, A. A.; MAKRIS, D. P.; KEFALAS, P. Determination of major anthocyanin pigments in Hellenicnative grape varieties (Vitis vinifera sp.):association with antiradical activity. **Journal of Food Composition and Analysis**, v. 18, p. 375–386, 2005.

MARTÍNEZ-FLÓREZ, S.; GONZÁLEZ-GALLEGO, J.; CULEBRAS, J.M.; TUÑÓN, M. J. Los flavonóides: propriedades y acciones antioxidantes. **Nutr Hosp**; v. 1, n. 6, p. 271-278, 2002.

PEARSON, D. A.; TAN, C. H.; GERMAN, J. B.; DAVIS P. A.; GERSHWIN M.E. Apple juice inhibits human low density lipoprotein oxidation. **Life Sci**; v. 64, n. 21, p. 1913-1920, 1999.

PIGNATELLI, P.; PULCINELLI, F. M.; CELESTINE, A. The flavonoids quercetin and catechin synergistically inhibit platelet function by antagonizing the intracellular production of hydrogen peroxide. **Am J Clin Nutr**; v. 72, p.1150-1155, 2000.

RECHNER, A. R.; KRONER, C. Anthocyanins and colonic metabolites of dietary polyphenols inhibit platelet function. Thromb Res. 2005;116(4):327-34

RENAUD, S.; LORGERIL, M. Wine, alcohol, plateles and the French Paradox for coronary heart disease. **Lancet**, v. 339, p. 1523-1526, 1992.

RICARDO DA SILVA, J. M. Estrutura e composição das procianidinas da uva e do vinho.Efeitos potenciais na saúde. **3º Simpósio de Vitivinicultura do Alentejo**. Évora, Portugal, v. 2, p. 343-355, 1995.

SERAFINI, M., MAIANI, G.; FERRO-LUZZI, A. F. Effect of ethanol on red wine tannin-protein (BSA) interactions. **J. Agric. Food Chem**., v. 45, p. 3148-3151, 1997.

-SHAHIDI, F.; WANASUNDARA, P. K. Phenolic antioxidants. **Critical Reviews in Food Science and Nutrition**, v. 32, n. 1, p. 67- 103, 1992.

SINGLETON, V. L.; ORTHOFER, R.; LAMUELA-RAVENTÓS, R. S.; Analysis of total phenols and other oxidation substrates and antioxidants by means of Folin- Ciocalteau reagent. Methods Enzymol. v. 299: p.152-178, 1999, *apud.* Antioxidative and antimicrobial potential of residues of camu-camu juice production. **Journal of Food, Agriculture & Environment**, v.8, p. 304-307, 2010.

SISTRUNK, W. A.; GASCOIGNE, H. L. Stability of color in Concord grape juice and expression of color. **J. Food Sci**., v. 48, p. 430-435, 1983.

SZMITKO, P. E.; VERMA, S. Antiatherogenic potencial of red wine: clinician update. **J Am Physiol Heart Circ Physiol**, v. 288, n. 5, p. 2023-2030, 2005.

THOMAS, S.; BALASUBRAMANIAN, K. A.; Role of intestine in postsurgical complications: involvement of free radicals. **Free Radical Biol. Med,** v.36, n.6, p.745-756, 2004.

VINSON, J. A; TEUFEL, K.; WU, N. Red wine, dealcoholized red wine, and especially grape juice, inhibit atherosclerosis in a hamster model. **Atherosclerosis** v. 156, p. 67-72, 2001.