

ANÁLISE DA ATIVIDADE ANTIOXIDANTE DE COMPOSTOS FENÓLICOS EM CHÁS E COMPARAÇÃO ENTRE MÉTODOS DIFERENTES DE EXTRAÇÃO

Palavras-Chave: CHÁ, COMPOSTOS FENÓLICOS, ATIVIDADE ANTIOXIDANTE

Autores:

VITÓRIA CHELI DE SOUSA, FEA - UNICAMP

Prof. Dr. MARCELO PRADO (orientador), FEA - UNICAMP

INTRODUÇÃO:

Os compostos fenólicos são uma classe de compostos bioativos presentes em diversos alimentos, incluindo chás. Eles são conhecidos por suas propriedades antioxidantes, anti-inflamatórias, anticancerígenas, entre outras. Por conta disso, têm despertado grande interesse na comunidade científica e na indústria de alimentos e bebidas.

Os chás são uma das principais fontes de compostos fenólicos na alimentação humana. Eles são amplamente consumidos em todo o mundo e têm sido objeto de muitos estudos por sua atividade antioxidante e potencial benefício à saúde. Dentre os compostos fenólicos encontrados nos chás, destacam-se as catequinas, as flavonas, os ácidos fenólicos e os flavonóis.

A atividade antioxidante dos compostos fenólicos tem sido relacionada à prevenção e ao tratamento de doenças crônicas, tais como câncer, doenças cardiovasculares, diabetes e neurodegenerativas. Além disso, a atividade antioxidante pode ser importante na conservação dos alimentos, uma vez que protege contra a oxidação e o deterioramento dos mesmos.

METODOLOGIA:

Preparo das amostras

As amostras de chás foram obtidas em mercado, sendo de Capim-cidreira, Erva-doce e Camomila. Identificou cada sabor um número, 1-Capim - cidreira, 2-Erva - doce e 3-Camomila.

Para o preparo das amostras estão sendo utilizados 5 formas diferentes para realizar as extrações, sendo uma a cápsula através da máquina e outras por infusão, alterando o tempo e a temperatura.

Para as infusões abriu as capsulas e utilizou o conteúdo nos infusores.

Preparo do DPPH

Para o preparo da solução de DPPH, pesou-se 3,3 mg de DPPH em um béquer e diluiu-se com uma pequena quantidade de metanol, na sequência, transferiu-se essa mistura para um balão volumétrico de 100 m, em completou até o menisco.

Em seguida, homogeneizou-se a solução em ultrassom por 25 segundos. Depois transferiu-se para um frasco âmbar identificado e armazenou-se na geladeira

Preparo da solução de ácido gálico

Para o preparo da curva padrão de ácido gálico, dissolveu-se 5 mg de ácido gálico em 5 ml de metano. Na sequência pegou 0,5 e completou para 5 ml. A Solução foi mantida protegida da luz na geladeira (Pires *et al*, 2017).

Curva padrão de ácido gálico

Para a curva padrão, no microplacas preparar a curva de acordo com o quadro 1 abaixo. Na sequência, deixou-se a temperatura ambiente e em ausência de luz por 30 minutos para que a reação possa ocorrer e na sequência a absorbância é determinada por espectrofotometria a 492. Construiu-se uma curva por regressão linear de concentração por absorbância.

Quadro 1 - Curva padrão de ácido gálico

Concentração final (um/mL)	Sol. DPPH (uL)	Ácido gálico (uL)	Metanol (uL)
Branco	—	—	300
0	280	—	20
0,5	280	1,5	1,5
1	280	3,0	17
1,5	280	4,5	15,5
2	280	6	14

Fonte: (Pires *et al*, 2017)

Extração das amostras

As amostras foram extraídas em temperaturas e tempo diferente segundo quadro 2. Para cada método foi dado um número para identificação

Quadro 2 - Tempo e temperatura do preparo de chá

Número de identificação	Método	Tempo	Temperatura
1	Máquina	18 segundos	65°C
2	Infusão Tradicional	5 minutos	90° C
3	Infusão Tempo máquina + Temperatura tradicional	18 segundos	90° C
4	Infusão Tempo tradicional + Temperatura máquina	5 minutos	65°C

5	Infusão Tempo máquina + Temperatura máquina	18 segundos	65°C
---	---	-------------	------

Fonte: A autora

Para os métodos com a temperatura da água da máquina, utilizou-se a própria água da máquina com uma cápsula vazia, sendo 100ml, assim como na cápsula. Para as temperaturas tradicionais, segundo fabricantes de chás em sachês, aqueceu-se a água até 90°C e realizou-se a extração por infusão deixando os infusores imersos na água, e cronometrando o tempo.

Capacidade antioxidante pelo radical livre DPPH•

A capacidade antioxidante é detectada com a descoloração da reação, pois o DPPH, no início, apresenta cor púrpura e após a ligação com os radicais livres, este se torna amarelo. Tanto a descoloração, quanto a diferença na leitura da absorbância são os modos de avaliação do potencial antioxidante.

Para a análise, prepara-se uma solução de DPPH• a 0,033 mg.mL⁻¹ em metanol. Em microplacas adicionou-se 280 ul da solução de DPPH• e em seguida 20ul ml das infusões. As preparações devem ficar em temperatura ambiente, em ausência de luz por 30 minutos para que a reação possa ocorrer e na sequência a absorbância é determinada por espectrofotometria a 492 e 540 nm (Pires *et al*, 2017), tendo os resultados a partir da média destes. Utilizou-se as duas faixas no microplaca, devido ao equipamento somente ter essas faixas para análise. O teste em branco é realizado com 300ul de metanol.

Para identificar a capacidade antioxidante calculou-se o potencial de inibição do DPPH•, o qual é determinado em porcentagem de inibição (I%), ou porcentagem de atividade antioxidante (AAO%), pela equação 1.

$$AAO\% = ((Abs_0 - Abs_1) / Abs_0) \times 100 \quad \text{Equação 1}$$

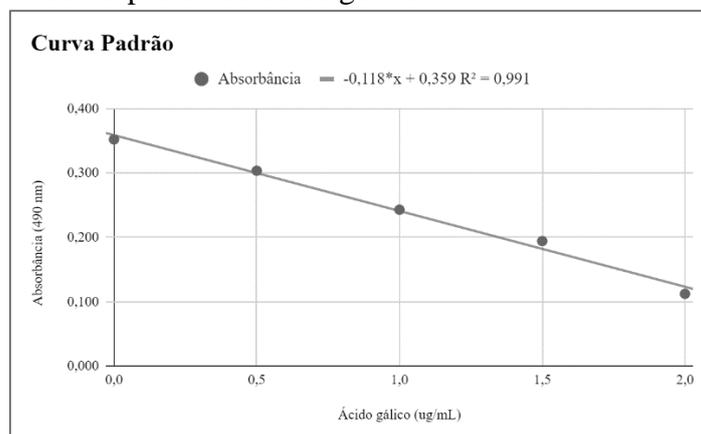
Abs_0 = Absorbância do teste branco

Abs_1 = Absorbância da amostra

RESULTADOS E DISCUSSÃO:

No quadro 3, abaixo encontra-se os resultados obtidos das análises dos chás nos cinco métodos, lidos na absorbância de 492 nm, o desvio padrão, por ter sido feito em triplicata, o valor da porcentagem de atividade antioxidante e o de ácido gálico equivalente, obtido a partir da equação de curva da regressão linear da curva padrão de ácido realizada, figura 1.

Figura 1 – Curva padrão de ácido gálico



Quadro 3 – Resultados das análises e dos cálculos da porcentagem de atividade antioxidante e de ácido gálico equivalente

Amostra	Abs	Des. Pad.	% AAO	Ác. gálico eq.
11	0,093	0,046	55,502	2,254
21	0,100	0,029	51,994	2,192
31	0,158	0,056	24,561	1,706
41	0,151	0,032	27,751	1,763
51	0,297	0,035	-42,265	0,523
12	0,108	0,007	48,325	2,127
22	0,096	0,023	54,067	2,229
32	0,184	0,026	12,121	1,486
42	0,090	0,032	57,097	2,282
52	0,211	0,030	-0,957	1,254
13	0,131	0,005	37,321	1,932
23	0,141	0,020	32,536	1,847
33	0,281	0,023	-34,290	0,664
43	0,161	0,025	23,126	1,681
53	0,341	0,026	-63,317	0,150

Fonte: A autora

Ao analisar os dados obtidos é possível observar que o método de extração utilizando a máquina obteve as mais altas porcentagens quando comparado com os outros métodos, nos sabores de capim cidreira e camomila, já no de erva doce isso não ocorreu e o método 5, o qual utiliza o tempo e a temperatura da máquina foi o que obteve os menores resultados. Com isso, pode se deferir que a pressão tem influência na extração de compostos fenólicos.

Analisando o ácido gálico equivalente, quanto maior valor, maior a capacidade antioxidante. Comparando os resultados dessa análise nos métodos 3, 4 e 5, os quais são variações do tempo e temperatura do método tradicional e da máquina, pode-se destacar que o fator o tempo interfere mais na extração, dado que o método 4, foi o que obteve o melhor entre os três, o qual fica cinco minutos na infusão. Os outros dois métodos ficam apenas 18 segundo, e mesmo com a temperatura mais alta, os resultados foram menores, mas ainda maiores do que o método 5.

Os métodos 1 e 2, tiveram resultados similares, dessa forma a pressão é uma boa aliada para a extração de compostos fenólicos, sendo que em menor tempo e com temperatura mais baixa é possível extrair boa quantidade de compostos fenólicos, sendo um bom aliado para a praticidade.

A camomila foi a que apresentou os valores mais baixos nas análises e a erva-doce foi a que obteve resultados mais constantes durante as análises, dado que durante a extração a água entrou em contato e molhou mais do que as outra, possibilitando uma melhor extração, o que se pode analisar nos resultados. Em volume a erva-doce foi a menor com menor volume de erva, corroborando parra que fosse possível que a água entrasse em contato com toda o conteúdo da infusão.

CONCLUSÕES:

Foi possível concluir que o método de extração com a máquina é eficiente e apresenta valores altos nos resultados, similares a extração tradicional por infusão, sendo um bom aliado à para a praticidade, sendo que a pressão auxilia para que a extração seja maior. O chá de erva doce foi o que obteve os resultados mais uniformes em todos os métodos de extração, sendo um chá de mais fácil extração de compostos fenólicos.

BIBLIOGRAFIA

ABE, Lucile Tiemi; MOTA, Renata Vieira da; LAJOLO, Franco Maria; GENOVESE, Maria Inés. Compostos fenólicos e capacidade antioxidante de cultivares de uvas *Vitis labrusca* L. e *Vitis vinifera* L. *Ciência e Tecnologia de Alimentos*, [S.L.], v. 27, n. 2, p. 394-400, jun. 2007. FapUNIFESP (SciELO). <http://dx.doi.org/10.1590/s0101-20612007000200032>.

PIZA, Wellington Alves; SILVA, Camila Maria de Souza; BRUZADELLI, Rafaela Franco Dias; SANTINI, Amanda Tristão; RIBEIRO, Ingridy Simone. Estudo comparativo da composição fenólica e atividades antioxidante e antibacteriana de chás industrializados e artesanais. *Research, Society And Development*, [S.L.], v. 10, n. 7, p. 1-9, 14 jun. 2021. *Research, Society and Development*. <http://dx.doi.org/10.33448/rsd-v10i7.16295>.

PIRES, Janaína *et al.* **Ensaio em microplaca do potencial antioxidante através do método de sequestro do radical livre DPPH para extratos de algas**. 2017. 6 f. Tese (Doutorado) - Curso de Instituto de Biociências, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2017. Disponível em: https://www.researchgate.net/publication/324452827_Ensaio_em_microplaca_do_potencial_antioxidant_e_atraves_do_metodo_de_sequestro_do_radical_livre_DPPH_para_extratos_de_algas. Acesso em: 12/06/2024.

PORT'S, Pollyane da Silva. **COMPOSTOS FENÓLICOS E POTENCIAL ANTIOXIDANTE DE ERVAS CONSUMIDAS NA REGIÃO AMAZÔNICA BRASILEIRA**. 2011. 97 f. Tese (Doutorado) - Curso de Ciências Alimentos, Unicamp, Campinas, 2011.

SILVEIRA, Ana Claudia da. **Método de DPPH adaptado: uma ferramenta para analisar atividade antioxidante de polpa de frutos da erva-mate de forma rápida e reprodutível**. 421. ed. Embrapa: Embrapa, 2018.

SUCUPIRA NR, da Silva AB, Pereira G, da Costa JN. Métodos Para Determinação da Atividade Antioxidante de Frutos. *J. Health Scie.* [Internet]. 2º de julho de 2015 [citado 12º de maio de 2023];14(4). Disponível em <https://journalhealthscience.pgsscogna.com.br/JHealthSci/article/view/885>

URZEDO, Nayane Duarte Ribeiro. **O chá verde e suas propriedades: uma breve revisão bibliográfica abrangendo os anos de 2000 a 2020**. 2020. 40 f. Tese (Doutorado) - Curso de Química Industrial, Universidade Federal de Uberlândia, Uberlândia, 2020.

LIMA, Luciana Leite de Andrade. **CARACTERIZAÇÃO E ESTABILIZAÇÃO DOS VINHOS ELABORADOS NO VALE DO SUBMÉDIO SÃO FRANCISCO**. 2010. 140 f. Tese (Doutorado) - Curso de Nutrição, Universidade Federal de Pernambuco, Recife, 2010.

ZHANG, L., & Tu, Z. C. (2018). Comparison of the antioxidant activity and phenolic composition of black and non-black Chinese teas using DPPH: A chemometrics approach. *Food chemistry*, 246, 1-8.