

UNIVERSIDADE FEDERAL DO PAMPA

JANAÍNE FUCHS DA SILVA

**AVALIAÇÃO DA CAPACIDADE ANTIOXIDANTE DO *VACCINIUM MYRTILLUS* L
(MIRTILO) E COMPARAÇÃO COM AS ESPÉCIES *MALPIGHIA EMARGINATA*
(ACEROLA) E *VITIS VINIFERA* L (UVA).**

**Itaqui
2016**

JANAÍNE FUCHS DA SILVA

AVALIAÇÃO DA CAPACIDADE ANTIOXIDANTE DO *VACCINIUM MYRTILLUS* L, (MIRTILO) E COMPARAÇÃO COM AS ESPÉCIES *MALPIGHIA EMARGINATA* (ACEROLA) E *VITIS VINIFERA* L (UVA).

Trabalho de Conclusão de Curso apresentado ao Curso de graduação em Nutrição da Universidade Federal do Pampa, como requisito parcial para obtenção do Título de Bacharel em Nutrição

Orientadora: Prof^a.Dr^a. Fabiana Cristina Missau

Co-orientadora: Prof^a. Dr^a. Simone Noremborg Kunz

**Itaqui
2016**

Ficha catalográfica elaborada automaticamente com os dados fornecidos
pelo(a) autor(a) através do Módulo de Biblioteca do
Sistema GURI (Gestão Unificada de Recursos Institucionais) .

S586a Silva, Janaíne Fuchs da
Avaliação da capacidade antioxidante do vaccinium mirtillus
L (mirtilo) e comparação com as espécies malpighia emarginata
(acerola) e vitis vinifera L (uva) / Janaíne Fuchs da Silva.
27 p.

Trabalho de Conclusão de Curso(Graduação)-- Universidade
Federal do Pampa, NUTRIÇÃO, 2016.

"Orientação: Fabiana Cristina Missau".

1. Tintura de iodo. 2. polifenóis. 3. antioxidantes. I.
Título.

JANAÍNE FUCHS DA SILVA

AVALIAÇÃO DA CAPACIDADE ANTIOXIDANTE DO *VACCINIUM MYRTILLUS* L, (MIRTILO) E COMPARAÇÃO COM AS ESPÉCIES *MALPIGHIA EMARGINATA* (ACEROLA) E *VITIS VINIFERA* L (UVA).

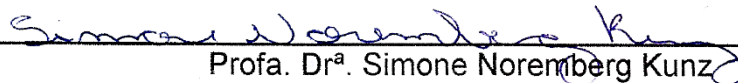
Trabalho de Conclusão de Curso apresentado ao Curso de graduação em Nutrição da Universidade Federal do Pampa, como requisito parcial para obtenção do Título de Bacharel em Nutrição

Trabalho de Conclusão de Curso defendido e aprovado em: 13 de junho de 2016.

Banca examinadora:



Profa. Dr^a. Fabiana Cristina Missau
Orientadora
UNIPAMPA



Profa. Dr^a. Simone Noremborg Kunz
Coorientadora
UNIPAMPA



TAE Lic. Franciane Cabral Pinheiro
UNIPAMPA

AGRADECIMENTO

Gostaria de agradecer a minha orientadora prof^a Dr^a Fabiana Cristina Missau, pelos ensinamentos, dedicação, que ouviu pacientemente as minhas considerações partilhando comigo as suas ideias, conhecimento e experiências, pela agradável convivência e pela experiente orientação preciosa para meu crescimento.

A minha co-orientadora prof^a Dr^a Simone Noremborg Kunz, pelo constante auxílio durante a execução das análises, pela paciência e boa vontade, partilhando comigo suas ideias, conhecimento e experiências.

Aos meus amigos, que me apoiaram e que sempre estiveram ao meu lado, em especial a minha amiga Amanda e ao meu amigo Dieison, que muitas vezes compartilhei momentos de tristezas, alegrias, angústias e ansiedade, mas que sempre estiveram ao meu lado me apoiando e me ajudando.

À minha família, pela força nas horas difíceis, por todo incentivo e compreensão.

As grandes amizades conquistadas durante a graduação e a todos aqueles que, direta ou indiretamente, contribuíram para minha formação.

RESUMO

Os antioxidantes são um conjunto heterogêneo de substâncias capazes de atrasar ou inibir a oxidação de um substrato oxidável. O papel dos antioxidantes é proteger as células sadias do organismo contra a ação oxidante dos radicais livres. Uma dieta rica no consumo de frutas, vegetais e grãos colabora para a redução da situação de estresse oxidativo e ajuda a prevenir doenças. Desta forma, o objetivo do trabalho foi comparar a atividade antioxidante entre o mirtilo e algumas frutas vermelhas e/ou roxas da época, que possuem compostos fenólicos. Para os testes foram utilizadas as seguintes amostras: suco integral de uva roxa; frutas congeladas: mirtilo e acerola, e uva rosa. Para os testes foram utilizadas amostras de suco concentrado e sob as diluições requeridas para cada método. As técnicas de análise foram o de tintura de iodo a 2% e DPPH (2,2-difenil-1-picrilhidrazil). Com a realização dos testes, foi possível determinar de forma quantitativa a atividade antioxidante do mirtilo em comparação com a acerola, uva rosa e suco integral de uva roxa. Desta forma, conclui-se, através dos testes qualitativos e quantitativos, que o mirtilo tem considerável ação antioxidante, porém ligeiramente menor que o detectado na uva roxa e na acerola, frutos já consagrados por esta propriedade na literatura. O mirtilo tem atraído atenção especial devido a sua alta capacidade antioxidante e elevada concentração de antocianinas e outros compostos fenólicos, apresentando-se como uma fruta desejável e nutritiva.

Palavras-Chave: Tintura de iodo, polifenóis, antioxidantes

ABSTRACT

Antioxidants are a heterogeneous group of substances able to delay or inhibit oxidation of an oxidizable substrate. The role of antioxidants is to protect the healthy cells of the organism against the oxidizing action of free radicals. A diet rich in the consumption of fruits, vegetables and grains contributes to the reduction of oxidative stress and helps prevent diseases. Thus, the objective of this work was to compare the antioxidant activity of blueberries and some red or purple fruits of the season that have phenolic compounds. For the tests, the following samples were used: whole purple grape juice, frozen fruit: blueberry and acerola and pink grape. For the tests, it was used concentrated juice samples under dilutions required for each method. The analytical methods were the 2% iodine method and DPPH (2,2-difenil-1-picrilhidrazil). With the tests, it was possible to determine quantitatively the blueberry's antioxidant activity compared with acerola, pink grapefruit and whole purple grape juice. So, it was concluded, by the qualitative and quantitative tests, that the blueberry has considerable antioxidant power, slightly fewer than detected in purple grape and cherry, fruits that are already established by this property in literature. The blueberry, has attracted special attention due to its high antioxidant capacity and high concentration of anthocyanins and other phenolic compounds, presenting it self as desirable and nutrition fruit.

Keywords: Tincture of iodine, polyphenols, antioxidants

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 - Frutos do mirtilo	11
Figura 2 - Frutos de acerola	12
Figura 3 - Frutos de uva rosa (imagem meramente ilustrativa)	12
Figura 4 - <i>Teste da tintura de iodo para o suco de acerola.</i>	18
Figura 5 - Teste da tintura de iodo para suco de mirtilo	18
Figura 6 - Teste da tintura de iodo para a uva rosa.	19
Figura 7 - <i>Teste da tintura de iodo para o suco integral de uva roxa.</i>	19
Figura 8 - Curva de calibração do DPPH x absorbância.	20
Figura 9 - Quantificação do DPPH (em mg) para as amostras concentradas.	22
Figura 10 - Quantificação do DPPH (em mg) para as amostras em solução 3:1(suco:água).	22
Figura 11 - Quantificação do DPPH (em mg) para as amostras em solução 2:2 (suco:água).	23
Figura 12 - Quantificação do DPPH (em mg) para as amostras em solução 1:3 (suco:água).	23

LISTA DE TABELAS

Tabela 1- Preparo das soluções para curva do DPPH	16
--	----

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	9
2 REVISÃO DE LITERATURA	10
2.1 Considerações Gerais sobre o gênero <i>Vaccinium</i>	10
2.2 Outras frutas com características antioxidantes	12
2.3 Antioxidantes	13
3 METODOLOGIA	14
3.1 Obtenção e preparo das amostras	14
3.2 Método tintura de iodo	14
3.3 Determinação da atividade antioxidante total em frutas pela captura do radical livre DPPH	15
4. RESULTADOS E DISCUSSÕES	17
4.1 Método tintura de iodo	17
4.2 Determinação da atividade antioxidante total em frutas pela captura do radical livre DPPH	19
5 CONSIDERAÇÕES FINAIS	24
6 REFERÊNCIAS	25

1 INTRODUÇÃO

Os radicais livres vêm sendo considerados nos últimos anos como grandes potencializadores de várias doenças como câncer, doenças cardiovasculares, catarata, declínio do sistema imune, disfunções cerebrais e diabetes mellitus tipo I (SOUSA et al., 2007). Radical livre é um átomo ou molécula, altamente reativo, que contém número ímpar de elétrons em sua última camada eletrônica (HALLIWELL, 1990).

Os antioxidantes têm um importante papel na manutenção do controle dos radicais livres e produzidos naturalmente pelos organismos e também são obtidos através da alimentação. Os antioxidantes são um conjunto heterogêneo de substâncias formadas por diversas moléculas naturais presentes nos alimentos, sendo que as principais são os isômeros da vitamina E (tocoferol), os carotenóides e a vitamina C (ácido ascórbico). Possuem a capacidade de atrasar ou inibir o efeito danoso dos radicais livres, ocorrendo naturalmente durante ações catalíticas de enzimas no metabolismo celular ou pela exposição à fatores exógenos (BARREIROS et al., 2006)

Os antioxidantes são amplamente encontrados no reino vegetal, onde sua maior concentração está nas frutas, hortaliças e em seus derivados. A estrutura química dos antioxidantes contém pelo menos um anel aromático, o qual está unido a uma ou mais hidroxilas, o que confere a estas substâncias propriedades de se complexar com os radicais livres, a fim de estabilizar ou neutralizar, segundo Karakaya (2004). Os alimentos são a melhor fonte de antioxidantes naturais, e uma alimentação rica em frutas, vegetais e grãos fornece para o corpo os antioxidantes necessários para prevenir doenças.

Os estudos sobre os antioxidantes têm ressaltado, principalmente, o uso de nutrientes isolados no tratamento e prevenção de doenças. Entretanto, nos alimentos são encontrados uma grande variedade de substâncias que podem atuar na proteção das células e tecidos (JACOB, 1995; NIKI et al., 1995; HERCBERG et al., 1998).

Evidências epidemiológicas têm demonstrado que o consumo regular de frutas está associado à redução da mortalidade e morbidade por algumas doenças crônicas não-transmissíveis. O efeito protetor exercido por estes alimentos tem sido atribuído à presença de fitoquímicos com ação antioxidante, dentre os quais se

destacam os polifenóis (WANG.et al.,1996), que são produtos secundários do metabolismo vegetal, constituindo um amplo e complexo grupo, com mais de 8000 estruturas conhecidas (BRAVO, 1998).

Os polifenóis são divididos em várias classes, segundo o esqueleto carbônico dos fitoquímicos, dentre as quais se destacam a dos ácidos fenólicos e a dos flavonóides, entre outras. A capacidade destes compostos é devida, principalmente, às suas propriedades redutoras, cuja intensidade da ação antioxidante exibida por estes fitoquímicos é diferenciada, uma vez que depende, fundamentalmente, do número e posição de hidroxilas presentes na molécula. (RICE-EVANS, 1996).

As frutas, principais fontes dietéticas de polifenóis, em função de fatores intrínsecos (cultivar, variedade, estadio de maturação) e extrínsecos (condições climáticas) apresentam, em termos quantitativos e qualitativos, composição variada desses constituintes. Por sua vez, a eficácia da ação antioxidante depende da estrutura química e da concentração destes fitoquímicos no alimento (FACHINELLO, 2008).

O mirtilo, conforme Matos et. al. (2014) tem atraído atenção especial devido a sua alta capacidade antioxidante e elevada concentração de antocianinas e outros compostos fenólicos, apresentando-se como uma fruta desejável e nutritiva.

O objetivo deste trabalho foi comparar a atividade antioxidante do mirtilo e algumas frutas vermelhas e/ou roxas da época, que possuem compostos fenólicos.

2 REVISÃO DE LITERATURA

2.1 Considerações Gerais sobre o gênero *Vaccinium*

O gênero *Vaccinium* inclui cerca de 450 espécies, das quais 40% se encontram na Ásia e no Pacífico, 26% no sub-continente norte-americano e 6% na Europa (FONSECA & OLIVEIRA, 2007). O *Vaccinium myrtillus* L (mirtilo ou blueberry) é um arbusto que pertence à família Ericaceae, originário da América do Norte, podendo ser encontrado desde o sul dos EUA até o leste do Canadá, conforme Matos et. al. (2014). O fruto do mirtilo é uma baga, que quando maduro adquire a coloração azul arroxeada, de tamanho pequeno, de sabor doce-ácido. O mirtilo adapta-se bem ao clima temperado (ROCHA, 2009). O fruto é cultivado ao longo de diversas regiões do mundo, atraindo atenção devido sua alta

capacidade antioxidante, bem como a elevada concentração de antocianinas e outros compostos fenólicos.

Conhecido e consumido em diversos países, no Brasil o mirtilo ainda é pouco conhecido, ressaltando que este fruto tem armazenagem restringida devido a presença de fungos e sua alta capacidade de desidratação, sendo em alguns casos necessária a utilização de atmosfera modificada, conforme destacado por Severo et. al. (2008). Entretanto, variedades como a “*rabbiteye*” é uma alternativa bastante utilizada no país, devido sua tolerância a condições climáticas de calor e seca, além de longa vida pós-colheita, como ressaltado por Rocha (2009).

O mirtilo contém em sua composição, antioxidantes, compostos fenólicos, vitamina C, fato que reforça a crescente discussão e pesquisa de seus componentes, como a pesquisa realizada por Severo. et. al. (2009), que objetivou o estudo de técnicas de armazenagem, a fim de destacar alternativas que possibilitem a ampliação do uso deste fruto.



Figura 1 - Frutos do mirtilo

2.2 Outras frutas com características antioxidantes

Frutos como a acerola (*Malpighia glabra L*) (Figura 02), como destacado por Alves (2014) também são ricos em antioxidantes, vitamina C e compostos fenólicos. Para Silva et al. (2010) a alta ingestão de frutas e vegetais com esses compostos está associada com a redução no risco de doenças crônicas como, aterosclerose e câncer. Da mesma forma, a uva (*Vitis sp.*), que é uma das maiores fontes de compostos fenólicos, ganha destaque.



Figura 2 - Frutos de acerola

Frutas como as uvas (Figura 03) possuem compostos fenólicos, que podem ser classificados em flavonóides e não-flavonóides. Do primeiro grupo fazem parte os flavanóis (catequina, epicatequina e epigallocatequina), flavonóis (caempferol, quercetina e miricetina) e antocianinas, e ao segundo grupo pertencem os ácidos fenólicos, hidroxibenzóicos e hidroxicinâmicos. Além destes compostos, pode-se encontrar também o resveratrol, polifenol pertencente à classe dos estilbenos (CABRITA et. al., 2003).



Figura 3 - Frutos de uva rosa (imagem meramente ilustrativa)

2.3 Antioxidantes

Os antioxidantes são substâncias encontradas em vários vegetais que neutralizam os radicais livres. Radicais livres são moléculas com meia-vida curta, formadas naturalmente através da oxidação estando envolvido diretamente na produção de energia e outros processos metabólicos. Os radicais livres são altamente reativos e tem influência no surgimento do estresse oxidativo, causando a descompensação do balanço de radicais livres e a produção de antioxidantes, facilitando a interação do mesmo ao RNA, DNA e outras substâncias consideradas oxidáveis (ALVES, 2014).

O mirtilo é um fruto com elevado potencial antioxidante quando comparado com outras frutas e vegetais. Dentre os compostos fenólicos presentes em grandes quantidades no mirtilo, estão as antocianinas, que têm expressiva presença na casca do fruto (Severo, et. al. 2009).

As antocianinas são flavonóides que se encontram largamente distribuídos na natureza e são responsáveis pela maioria das cores azul, violeta e todas as tonalidades de vermelho que aparecem em flores, frutos, algumas folhas, caules e raízes de plantas (MALACRIDA & MOTTA, 2005). Em experiências *in vitro*, pesquisas mostraram que as antocianinas inibiram o crescimento celular e induziram as células cancerígenas ao processo de apoptose (TALAVERA, et. al. 2003). Encontrado em diferentes frutos, nas videiras elas acumulam-se nas folhas durante a senescência e são responsáveis pela coloração das cascas das uvas, sendo encontradas também na polpa de algumas variedades de uvas, como ressaltado por Malacrida e Motta (2005). Conforme Lima et. al. (2003) a cor vermelha da acerola, no estágio maduro, é devido à presença de antocianinas, variando a coloração conforme o nível de concentração desta substância.

A vitamina C também é considerada um antioxidante natural que pode inibir o desenvolvimento de doenças coronárias e de certos cânceres (DIPLOCK, 1994). Nos frutos, é composta, em sua maior parte, pelo ácido ascórbico (AA) e sua forma oxidada, o ácido dedeidroascórbico (DHA), que possuem um papel importante sob as reações de stress oxidativo, dentre elas a reciclagem da vitamina E, no processo de peroxidação lipídica das membranas e lipoproteínas. São encontrados níveis baixos desta vitamina no mirtilo, como no trabalho de Severo et. al. (2009). Porém, a

vitamina C está presente em várias frutas entre elas na acerola. Alves (2014) enfatiza que o consumo de 100 g de acerola, é suficiente para o alcance das necessidades nutricionais diárias de vitaminas A e C para adultos.

Conhecidas as propriedades antioxidantes tanto de frutos com compostos fenólicos quanto com vitamina C, bem como a importância de diferentes formas de obtenção de antioxidantes, foram escolhidos a acerola, uva rosa e suco integral de uva roxa, frutas estas com propriedades já consagradas pela literatura, e compará-las com o mirtilo.

3 METODOLOGIA

3.1 Obtenção e preparo das amostras

Os métodos de análise utilizados foram executados nos laboratórios de análises química da Universidade Federal do Pampa, Unidade Universitária Itaqui. Para os testes foram utilizadas as seguintes amostras: suco integral de uva roxa sem adição de açúcar, frutas congeladas: mirtilo, acerola e uva rosa. As frutas mirtilo e uva rosa foram obtidas de forma comercial nos meses dezembro de 2015 e março de 2016, respectivamente, e a acerola coletada na cidade de Itaqui no mês de dezembro de 2015.

Para análise, as frutas foram deixadas em temperatura ambiente por oito horas antes da pesagem de 600g de cada, em balança de precisão (Marte de modelo UX 4200H). Para o preparo do suco foi usado um liquidificador (Philips Walita 600w de modelo RI 2044) e foram utilizados a casca, polpa e semente. Após, foram usados 200 mL do suco de cada fruta e a mesma proporção em mL para o suco integral de uva roxa. Foram feitas três análises, sendo a primeira e a segunda realizadas em dois dias consecutivos, uma em cada dia, e uma terceira análise realizada após sete dias.

3.2 Método tintura de iodo

A tintura de iodo é antisséptica e de fácil acesso, cuja composição é uma mistura de iodo molecular (I_2) e iodeto (I^-). Estas espécies podem reagir, formando o íon triiodeto (I_3^-), o qual pode ser detectado pela presença de amido, pela formação de complexo de coloração azul-escuro.

No entanto, a presença de substâncias antioxidantes tais como os compostos fenólicos é capaz de reduzir o I_2 à I^- , o que impede a formação do I_3^- . Esta é uma prática de baixo custo e fácil execução para detecção qualitativa de substâncias antioxidantes em sucos naturais de frutas.

Na análise em estudo foram diluídas 5 gotas de tintura de iodo (2%) em 150 mL de água. Em seguida foram adicionados 0,2; 0,5; 1,0 e 2 mL do suco concentrado de cada fruta e do suco de uva integral em cada recipiente até a homogeneização para verificação da coloração. Por fim foi adicionado o amido de milho para facilitar a visualização da presença do I_3^- . Foram usados como controle água com vitamina C (controle positivo) e como branco, apenas água (controle negativo). Essa etapa foi repetida aumentando as quantidades de tintura de iodo para 10, 15 e 20 gotas (JÚNIOR, et al., 2003).

3.3 Determinação da atividade antioxidante total em frutas pela captura do radical livre DPPH

Conforme Rufino, et al., 2007, o método da determinação da atividade antioxidante total em frutas pela captura do radical livre DPPH baseia-se na transferência de elétrons onde, por ação de um antioxidante ou uma espécie radicalar, o 2,2-difenil-1-picril-hidrazil (DPPH) que possui cor púrpura é reduzido formando difenil-picril-hidrazil, de coloração amarela, com consequente desaparecimento da absorção, podendo a mesma ser monitorada pelo decréscimo da absorbância.

Para a verificação da capacidade antioxidante foi utilizado o método de captura do radical DPPH por antioxidantes. Para a preparação da solução de DPPH 0,06 mM, foram dissolvidos 2,4 mg do reagente com metanol em um balão volumétrico de 100 mL.

Para o preparo da curva de calibração foram feitas diluições a partir da solução inicial de DPPH (0,06 mM) em balões volumétricos de 10 mL, conforme a Tabela 1.

Tabela 1- Preparo das soluções para curva do DPPH

Solução de DPPH (mL)	Álcool Metílico (mL)	Concentração final de DPPH (μ M)
0	10	0
1,7	8,3	10
3,3	6,7	20
5	5	30
6,7	3,3	40
8,3	1,7	50
10	0	60

Em ambiente escuro, foi transferido 3,9mL da solução de DPPH para tubos de ensaio e adicionado de 0,1mL do suco concentrado e de diluições, sendo respectivamente as proporções de suco:água (1:3, 2:2 e 3:1) de cada fruta e do suco integral de uva roxa. A leitura foi realizada em espectrofotômetro UV-Vis (AAKER) a 515 nm.

Após a leitura, foi substituído na Eq. 1, obtida pela curva de calibração, o valor correspondente a metade da absorbância inicial da amostra pelo y da equação da curva do DPPH para encontrar o consumo em μ M DPPH e, em seguida, transformar para g DPPH).

Foi construída a curva do DPPH com o valor das absorbâncias obtidas x concentração da solução (Fig. 2).

$$y = ax - b$$

(Eq. 1)

Y = Absorbância inicial do controle / 2 (Item “determinação da atividade antioxidante total”)

X = resultado em μ M DPPH

Para converter para g DPPH : g DPPH = (μ M DPPH / 1.000.000). 394,3 (peso molecular do DPPH).

E para converter para mg = mg x 1000 (Eq. 2)

4. RESULTADOS E DISCUSSÕES

Os vegetais, em particular as frutas, apresentam em sua constituição vários compostos com ação antioxidante, os quais incluem o ácido ascórbico, carotenóides e polifenóis (MELO et al., 2008).

Com a realização deste trabalho, utilizando-se as análises da tintura de iodo e a determinação da atividade antioxidante pela captura do radical livre DPPH, foi possível determinar de forma quantitativa a atividade antioxidante do mirtilo em comparação com a acerola, uva rosa e suco integral de uva roxa.

4.1 Método tintura de iodo

Nas amostras de frutas quanto mais concentrada a solução, mais compostos antioxidantes possuem, o que impede a formação do íon triodeto.

Com a realização do teste da coloração do iodo, foi possível classificar as amostras, em uma escala decrescente, quanto ao potencial antioxidante da seguinte forma: acerola, suco integral de uva roxa, mirtilo e uva rosa.

Na comparação entre as amostras, a acerola foi a que mais reduziu a formação do complexo azul de iodo e amido (Figura 4), tornando a solução de coloração clara, devido à presença de ácido ascórbico, a vitamina C que é considerada um antioxidante natural (DIPLOCK, 1994). O mirtilo teve uma redução (Figura 5) maior que a uva rosa, provavelmente devido aos compostos presentes e devido a maior presença de antocianinas na casca e na polpa.

O suco de uva rosa, quando submetido ao teste de tintura de iodo (Figura 6), teve uma redução maior da coloração do complexo que o mirtilo, apresentando coloração mais clara, o que pode ser atribuído a presença de substância antioxidantes, dentre elas merecendo destaque os compostos fenólicos, capazes de

reduzir o iodo molecular à iodeto, impedindo assim a formação do íon triiodeto. A coloração obtida foi mais clara que a apresentada pelo teste realizado no mirtilo, o que leva a propor que o mirtilo tem capacidade antioxidante inferior ao suco integral de uva roxa (Figura 7).

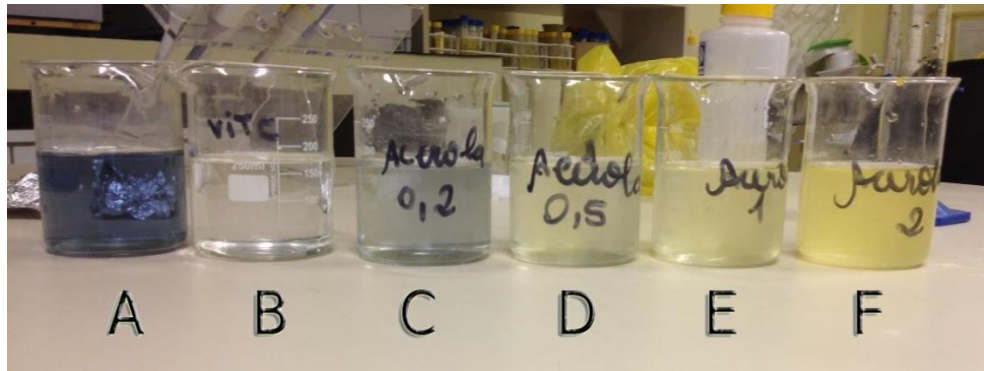


Figura 4 - Teste da tintura de iodo para o suco de acerola realizado com controle negativo (A), controle positivo (B), 0,2 mL (C), 0,5 mL (D), 1 mL (E) e 2 mL (F). A todas as diluições também foram adicionadas 5 gotas de iodo.

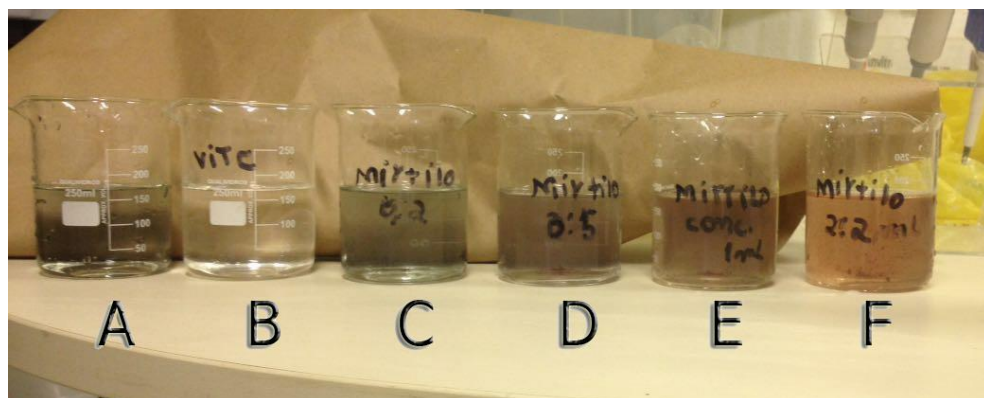


Figura 5 - Teste da tintura de iodo para suco de mirtilo realizado com controle negativo (A), controle positivo (B), 0,2 mL (C), 0,5 mL (D), 1 mL (E) e 2 mL (F). A todas as diluições também foram adicionadas 5 gotas de iodo.

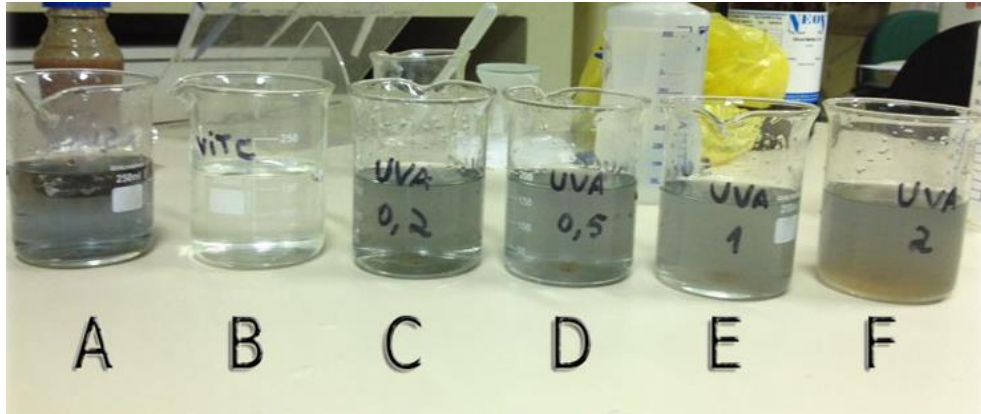


Figura 6 - Teste da tintura de iodo para a uva rosa realizado com controle negativo (A), controle positivo (B), 0,2 mL (C), 0,5 mL (D), 1 mL (E) e 2 mL (F). A todas as diluições também foram adicionadas 5 gotas de iodo.

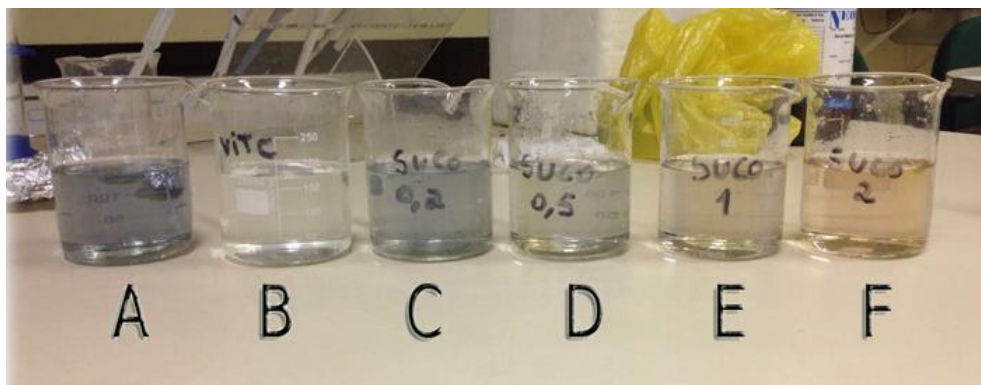


Figura 7 - Teste da tintura de iodo para o suco integral de uva roxa realizado com controle negativo (A), controle positivo (B), 0,2 mL (C), 0,5 mL (D), 1 mL (E) e 2 mL (F). A todas as diluições também foram adicionadas 5 gotas de iodo.

4.2 Determinação da atividade antioxidante total em frutas pela captura do radical livre DPPH

Primeiramente foi construída a curva do DPPH com o valor das absorvâncias obtidas x concentração da solução (Figura 8), para o cálculo do potencial antioxidante das frutas através da eq. 1 e 2.

A determinação da atividade antioxidante pela captura do radical livre DPPH confirmaram os resultados obtidos no teste da coloração do iodo, onde em uma

escala decrescente, as frutas foram classificadas quanto ao potencial antioxidante: acerola, suco integral de uva roxa, mirtilo e uva rosa.

Com a realização dos testes de DPPH com as amostras concentradas de mirtilo, acerola, suco de uva roxa e uva rosa (fruta), para amostras concentradas (Figura 9) para as diluições 3:1 (figura 10); 2:2 (figura 11); 1:3 (figura 12), foi possível constatar que conforme o potencial antioxidante da fruta, bem como a variação na concentração, causada pelas diluições, foram detectados diferentes níveis de DPPH. Para o teste de captura, quanto menor o índice de DPPH presente na solução final, maior é o potencial antioxidante da amostra.

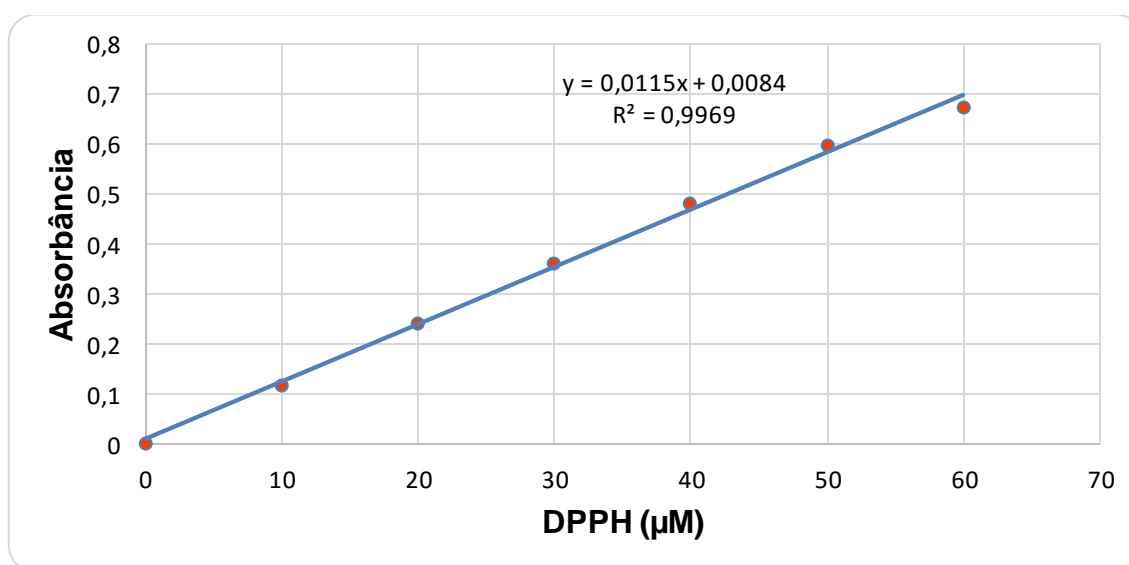


Figura 8 - Curva de calibração do DPPH x absorvância.

Não houve mudanças significativas detectadas entre os experimentos realizados ao longo dos três dias, portanto foram apresentados apenas os gráficos do primeiro dia de análise.

Entre as frutas testadas, a acerola apresentou a maior capacidade de sequestro de radicais livres quando comparada ao mirtilo e as demais frutas analisadas. Esta capacidade pode ser atribuída ao alto teor de ácido ascórbico presente na acerola já destacado por Alves (2014).

Já a uva rosa quando comparada ao mirtilo apresenta capacidade antioxidante menor, o que pode ser atribuído a composição do mirtilo, representada principalmente pelo ácido ascórbico e por apresentar em sua composição alta concentração de compostos fenólicos, sendo superior a maioria das frutas (WANG, 1996). A composição de fenólicos totais e de antocianinas nas uvas variam de acordo com a espécie, variedade, maturidade e condições climáticas (MAZZA, 1995). O mirtilo apresenta em sua composição níveis maiores de compostos fenólicos que estão presentes na polpa e na casca, os compostos na uva estão presentes principalmente na casca.

O suco integral de uva roxa possui a mesma composição da uva rosa, porém o suco é feito com a uva roxa que possui maior composição de antocianinas na casca, de forma que o suco da uva roxa integral apresenta três vezes a concentração total de flavonoides em comparação com os sucos cítricos (MATEO; JIMÉNEZ, 2000). As amostras de suco integral de uva roxa apresentaram um poder antioxidante maior que o mirtilo. Essa tendência se manteve nas soluções 3:1, 2:2 e 1:3. Dessa forma, conforme a concentração do suco, maior será o poder antioxidante em um determinado volume de amostra.

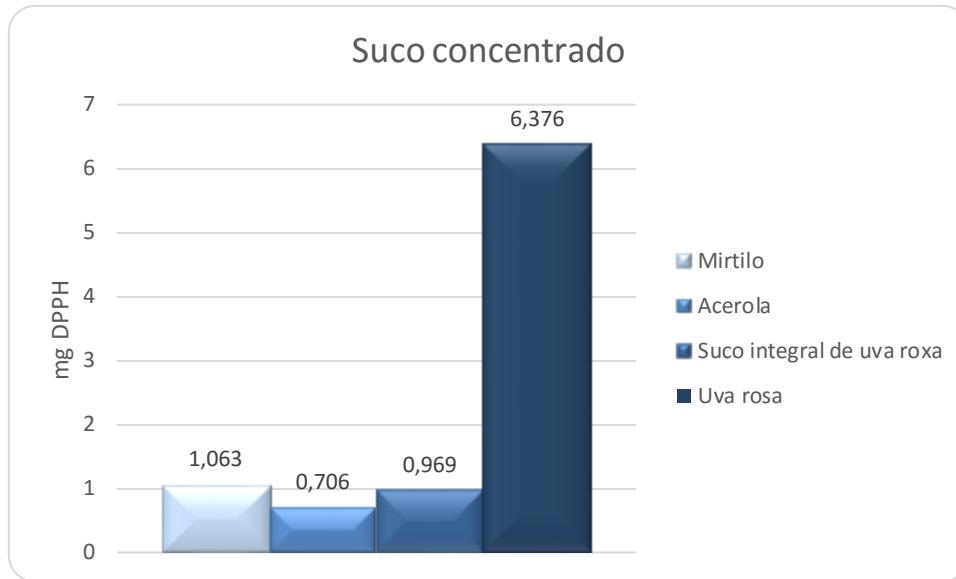


Figura 9 - Quantificação do DPPH (em mg) para as amostras concentradas.

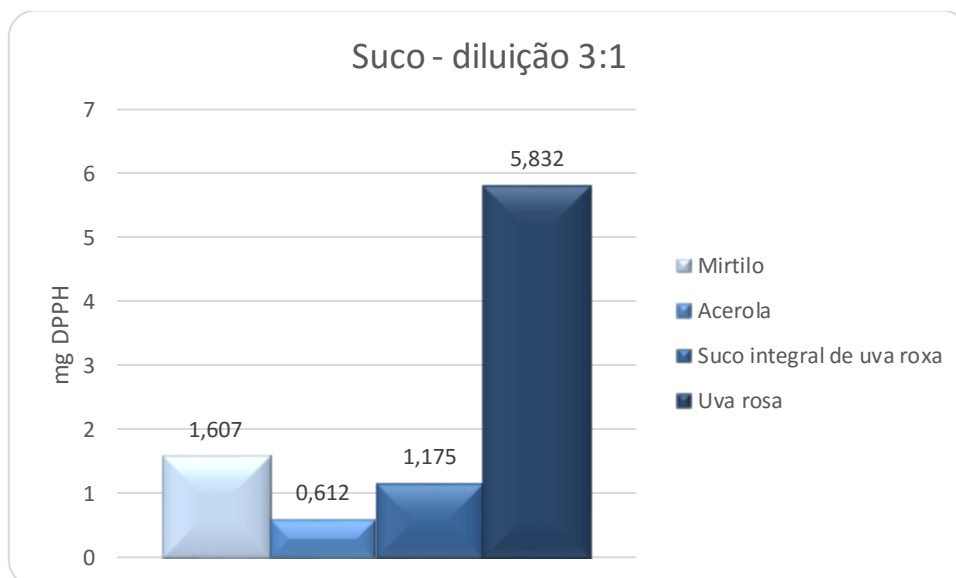


Figura 10 - Quantificação do DPPH (em mg) para as amostras em solução 3:1(suco:água).

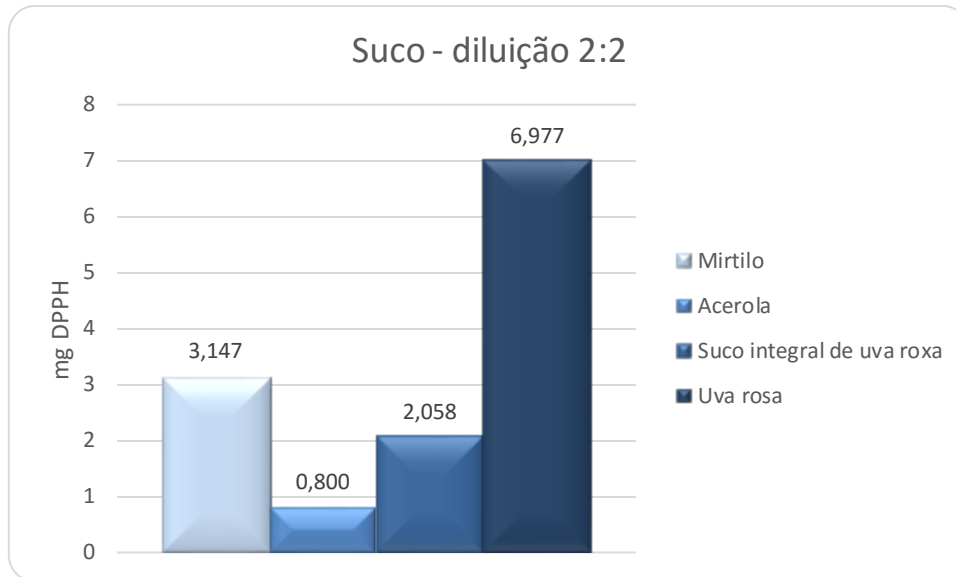


Figura 11 - Quantificação do DPPH (em mg) para as amostras em solução 2:2 (suco:água).

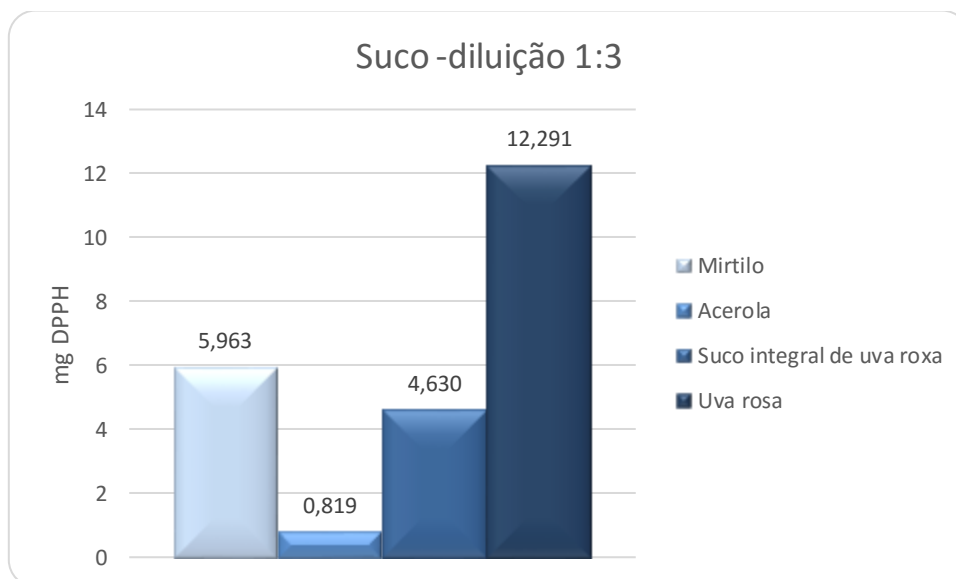


Figura 12 - Quantificação do DPPH (em mg) para as amostras em solução 1:3 (suco:água).

5 CONSIDERAÇÕES FINAIS

A realização do teste da tintura de iodo, que demonstra a maior capacidade de assimilação dos radicais livres com a remoção da coloração do iodo através da redução de I_2 à I^- , permitiu concluir que o maior poder antioxidante foi observado na acerola, seguida pelo suco integral de uva roxa, mirtilo e em menor intensidade a uva rosa. Estes resultados foram confirmados com o teste de sequestro de radicais DPPH, sendo que a uva rosa apresentou valores consideravelmente maiores, indicando menor potencial antioxidante.

Com a realização do estudo, constatou-se através dos testes qualitativos e quantitativos, que o mirtilo tem considerável ação antioxidante, porém ligeiramente menor que o detectado no suco integral de uva roxa na acerola, frutos já consagrados por esta propriedade na literatura.

Considerando as mudanças as quais os frutos estão suscetíveis, sejam elas condições climáticas, estágio de maturação e diferentes formas de preparo, são considerados necessários novos estudos, que contemplem estas variáveis, a fim de se conhecer de forma mais detalhada a ação antioxidante do mirtilo em cada uma de suas possibilidades de utilização.

6 REFERÊNCIAS

ALVES, M. S. Determinação dos compostos antioxidantes da acerola e seus benefícios a saúde. **Monografia (Graduação em Nutrição)**. Universidade Paulista. 2014.

BARREIROS, L. B. S.; DAVID, J. M.; DAVID, J. P. Estresse oxidativo: relação entre geração de espécies reativas e defesas do organismo. **Química Nova**, São Paulo, v. 29, n. 1, 2006.

BRAVO, L. Polyphenols: chemistry, dietary sources, metabolism and nutritional significance. **Nutr. Rev.**, Washington, v. 56, n. 11, p. 317-333, 1998.

CABRITA, M. J.; SILVA, J. R.; LAUREANO, O. Os compostos polifenólicos das uvas e dos vinhos. In: **I SEMINÁRIO INTERNACIONAL DE VITIVINICULTURA**. Anais...Ensenada, México, 2003.

DIPLOCK, A. T. Antioxidants and disease prevention. **Molecular Aspects of Medicine**, Orlando, v. 15, n. 4, p. 293-376, 1994.

FACHINELLO, J. C. Mirtilo. **Revista brasileira de fruticultura**. Pelotas. v. 30, n. 2, p. 285-576, 2008.

FONSECA, L. L.; OLIVEIRA, P. B.. A planta de mirtilo. **Folhas de Divulgação AGRO 556, N.º2**, 2007.

HALLIWELL, B. How to characterize a biological antioxidant. **Free Radical Research Communications**, v.9, p.1-32, 1990.

HERCBERG, S. et. al. Background and rationale behind the SU.VI. MAX study, a prevention trial using nutritional doses of a combination of antioxidant vitamins and minerals to reduce cardiovascular diseases and cancers. **International Journal for Vitamins and Nutrition Research**, Bern, v.68, n.1, p.3- 20, 1998.

JACOB, R.A. The integrated antioxidant system. **Nutrition Research**, New York, v.15, n.5, p.755-766, 1995.

JÚNIOR, R.C; et. al. Da cozinha para a sala de aula: Atividade atividades de chão e temperos. In: **33ª Reunião Anual da Sociedade Brasileira de Química**. Fortaleza, 2003. Anais da 33ª Reunião Anual da Sociedade Brasileira de Química. Universidade Federal do Ceará, 2003.

KARAKAYA, S. Bioavailability of phenolics compounds. **Critical Reviews in Food Science and Nutrition**, Boca Raton, v. 44, n. 6, p. 453-464, 2004.

KUSKOSKI, E.M. et. al. Aplicación de diversos métodos químicos para determinar actividad antioxidante em pulpa de frutos. **Revista de Ciência e Tecnologia de Alimentos**, Campinas, v.25, n.4, p.726-732, 2005.

LIMA, V. L. A. G. et al. Avaliação Do Teor De Antocianinas Em Polpa De Acerola Congelada Proveniente De Frutos De 12 Diferentes Aceroleiras (*Malpighia Emarginata* D.C). **Ciência, Tecnologia e Alimentos**, v. 23, n. 1, p. 101–103, 2003.

MALACRIDA, C. R.; MOTTA, S. Compostos fenólicos totais e antocianinas em suco de uva. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v. 25, n. 4, p. 659–664, 2005.

MATEO, J. J.; JIMÉNEZ, M. Monoterpenes in grapejuice and wines. **Journal of Chromatography A**, v.881, n. 1-2, p. 557-567, 2000.

MATOS, S. et al. Avaliação dos compostos fenólicos e atividade antioxidante em mirtilos de diferentes proveniências geográficas. **Neonatology**, v. 100, n. 3, p. 319–341, 2014.

MAZZA, G. Anthocyanins in grapes and grape products. **Critical Reviews in Food Science and Nutrition** ., v. 35, p. 341-371, 1995

MELO, E. A. et al. Capacidade antioxidante de frutas. **Revista Brasileira de Ciências Farmacêuticas**, v. 44, n. 2, p. 193–201, 2008.

NIKI, E., et. al Interaction among vitamin C, vitamin E, and β --carotene. **American Journal of Clinical Nutrition**, v.62, n.6, p.1322-1326, 1995.

RICE-EVANS, C.A.; MILLER, N.J.; PAGANGA, G. Structure antioxidant activity relationship of flavonoids and phenolic acid. **Free Radical Biology & Medicine**, New York, v.20, n.7, p.933-956, 1996.

ROCHA, F. I. G. Avaliação da cor e da atividade antioxidante da polpa e extrato de mirtilo (*Vaccinium myrtillus*) em pó. **Monografia (Programa de Pós-Graduação em Ciência e Tecnologia de Alimentos)**. Universidade Federal de Viçosa, 2009.

RUFINO, M. S.M. et al. Metodologia científica: Determinação da Atividade Antioxidante Total em Frutas pela Captura do Radical Livre DPPH. **Comunicado Técnico 127**. Embrapa. Fortaleza, CE, p. 127. 2007.

SEVERO, J. et al. Avaliação de compostos fenólicos, antocianinas, vitamina C e capacidade antioxidante em mirtilo armazenado em atmosfera controlada. **Brazilian Journal of Food Technology**, Campinas, v. 52, p.65-70, 2009.

SILVA, M. L. C. et al. Compostos fenólicos, carotenóides e atividade antioxidante em produtos vegetais. **Semina: Ciências Agrárias, Londrina**, v. v. 31, n., p. 669–682, 2010.

SOUSA, C.M.M, et. al. Fenóis totais e atividade antioxidante de cinco plantas medicinais. **Química Nova**, v. 30, p. 351-355, 2007.

TALAVERA, S. et al. Anthocyanins are efficiently absorbed from the stomach in anesthetized rats. **J. Nutr.**, v. 133, p. 4178-4182, 2003.

WANG, H.; CAO, G.; PRIOR, R.L. Total antioxidant capacity of fruits. *J. Agric. Food Chem.*, Washington, v.44, n.3, p.701-705, 1996.

UNIVERSIDADE FEDERAL DO PAMPA. Manual de Normalização para Trabalhos Acadêmicos. 2013. 3 ed. 22 p. Disponível em <<http://porteiros.r.unipampa.edu.br/portais/sisbi/programa-de-capitacao/>>. Acesso em: 02 abr. 2016.