

 Thássia Fernandes Santana de Macena ¹

 Daiara Rakeli Simão Boyarski ¹

 Denise Rocha Ramos Barbosa¹

 Rodolfo Castilho Clemente ¹

¹ Universidade Federal do Tocantins, Curso de Nutrição, Palmas, TO, Brasil.

Artigo oriundo da pesquisa de dissertação intitulada Quantificação de compostos fenólicos, poder antioxidante e teor de açúcares em produtos comerciais a base de *Camellia sinensis* L., apresentado em abril de 2019, na Universidade Federal do Tocantins, campus Palmas, TO.

Correspondência

Thássia Fernandes Santana de Macena

thassiamacena@gmail.com

Quantificação de compostos fenólicos, poder antioxidante e teor de açúcares em produtos comerciais a base de *Camellia sinensis* L.

*Quantification of phenolic compounds, antioxidant power and sugar content in commercial products based on *Camellia sinensis* L.*

Resumo

Objetivo: Analisar e comparar quantitativamente compostos fenólicos, capacidade antioxidante e açúcares presentes em infusões e extratos solúveis de *Camellia sinensis* L. **Método:** O estudo apresenta delineamento inteiramente casualizado, utilizando amostras por conveniência. Foram adquiridas três amostras aleatórias de cada tipo de chá. As análises de compostos fenólicos totais e flavonoides foram determinadas pelo método colorimétrico de Folin-Ciocalteu e cloreto de alumínio, respectivamente, taninos totais por complexação com caseína e os condensados pelo método do butanol-HCl. A capacidade antioxidante, pela metodologia do ferricianeto e sequestro de radicais livres pelo radical 2,2-difenil-1-picril-hidrazil, e os açúcares redutores e não redutores, através do reagente ácido 3-5-dinitrossalicílico. **Resultado:** Os extratos infusos apresentaram quantidades significativamente maiores de compostos fenólicos totais e flavonoides em comparação ao solúvel. Esse comportamento foi o mesmo para os taninos e atividade antioxidante. As infusões obtiveram maior poder redutor e capacidade de redução do radical livre. Os extratos solúveis foram destaque, com maior presença de açúcares. Esses resultados foram confirmados pela literatura e não houve trabalhos realizados com extratos solúveis e metodologias semelhantes ao realizado aqui para comparação. **Conclusão:** As infusões estudadas no presente trabalho foram mais ricas em compostos bioativos e antioxidantes, favorecendo seus benefícios para a população, tendo os extratos solúveis maior presença de açúcares adicionais.

Palavras-chave: *Camellia sinensis*. Ação Antioxidante. Compostos Fenólicos. Açúcares. Chá.

Abstract

Objective: To analyze and quantitatively compare phenolic compounds, antioxidant capacity and sugars present in infusions and soluble extracts of *Camellia sinensis* L. **Methods:** The study presents a completely randomized design, using samples for convenience, Three random samples of each type of tea, The analyzes of total phenolic compounds and flavonoids were determined by the Folin-Ciocalteu colorimetric method and aluminum chloride, respectively, total tannins by complexation with casein and condensates by the butanol-HCl method, The antioxidant capacity, by ferricyanide methodology and free radical scavenging by the radical 2,2-diphenyl-1-picryl-hydrazil, and reducing and non-reducing sugars, through the reagent 3-5 dinitrosalicylic acid, **Result:** The infused extracts showed significantly higher amounts of total phenolic compounds and flavonoids compared to the soluble, This behavior was the same for tannins and antioxidant activity, The infusions obtained greater reducing power and capacity to reduce free radicals, Soluble extracts were highlighted,

with a greater presence of sugars, These results were confirmed by the literature and there were no studies carried out with soluble extracts and methodologies similar to that performed here for comparison, **Conclusion:** The infusions studied in the present study were richer in bioactive and antioxidant compounds, favoring their benefits for the population, with soluble extracts having a greater presence of additional sugars,

Keywords: *Camellia sinensis*. Antioxidant. Phenolic Compounds. Sugars. Tea.

INTRODUÇÃO

Segundo a Food and Agriculture Organization of the United Nations – FAO, a cada ano haverá um aumento na produção do chá verde de 7,5%, podendo chegar a 3,6 milhões de toneladas em 2027.¹ O aumento da produção e do consumo é explicado pelo amplo conhecimento da população sobre os benefícios anti-inflamatórios e antioxidantes dos chás.¹ O poder conhecido como antioxidante natural dessa bebida se deve à presença de compostos ativos como os polifenóis.² Além disso, os chás são apreciados por suas características sensoriais de aroma e sabor e a presença de vitaminas e minerais.²

A ANVISA, através da RDC nº. 277, de 22 de setembro de 2005, conceitua chá como a bebida originada de espécie(s) vegetal(is) utilizadas em fragmentos, pedaços menores ou inteira, ter sofrido algum tratamento térmico, como tostadas, secas ou fermentadas, e ser ou não acrescida de condimentos que atribuam sabor ou aroma.³ Conceitua também os produtos solúveis como o resultado do processo da desidratação de um extrato aquoso realizado através de algum método físico, a partir de espécie(s) vegetal(is) constantes no Regulamento Técnico específico para o chá.³

As folhas da *Camellia sinensis* L. (*C. sinensis* L.) estão entre as mais consumidas.^{4,5} Comum no Oriente, essa planta pertence à família das Theaceae e de acordo com o tipo de processamento ao qual é submetida, pode dar origem a tipos diferentes de chás, dentre eles o chá *oolong*, que passa por um processo fermentativo mais leve; o chá preto, que é totalmente fermentado; e o chá verde, que não é fermentado.^{4,5,6}

O chá verde passa por um processo de inativação enzimática logo após ser colhido, tornando a enzima polifenoloxidase inerte devido a vaporização e secagem.⁵ Esse método de aquecimento evita a oxidação dos compostos fenólicos, como as catequinas, polifenóis presentes em maior quantidade, com cerca de 30% do peso das suas folhas secas.^{2,5} Proteínas, aminoácidos, lipídios, polissacarídeos, minerais e cafeína também podem ser encontrados nas folhas desse chá.⁷

O efeito antioxidante do chá da *C. sinensis* L. é resultado da grande presença de compostos fenólicos, que por sua vez são capazes de sequestrar radicais livres, impedindo reações oxidativas prejudiciais ao funcionamento do organismo.^{8,9} Esse fato gera benefícios à saúde, sendo associado a ações quimioprotetoras, termogênicas, anti-inflamatórias, anticarcinogênicas, antitumorais, antialérgicas e antivirais.^{10,11} A literatura também cita sua atuação como preventivo para doenças cardiovasculares, hipercolesterolemia, atividade antibacteriana, bem como a presença de minerais e vitamina K.¹¹

Para o consumo, os chás são encontrados no mercado sob forma de folhas fragmentadas e/ou moídas ou em sachês preparados por infusões.^{12,13} Já outra forma disponibilizada do chá verde é sua configuração em chá solúvel, apresentado em forma de pó, obtido através do processo de liofilização, o qual favorece a conservação e maior tempo de armazenamento dos produtos.¹⁴

Estas formas de consumo da *C. sinensis* L. são realizadas pela população com a adição de água para infusões ou reconstituição de extratos solúveis. Assim, há necessidade de pesquisas referentes ao chá verde solúvel e infuso comuns no comércio, quanto a sua capacidade antioxidante e compostos bioativos presentes, usando metodologias que o aproximem do modo em que os chás são consumidos pela população.

Assim, este artigo tem como objetivo analisar e comparar quantitativamente compostos fenólicos, capacidade antioxidante e açúcares presentes em infusões e extratos solúveis de *C. sinensis* L.

MÉTODO

Este estudo apresenta delineamento inteiramente casualizado, utilizando amostras por conveniência. As análises ocorreram no Laboratório de Ciências Básicas e Saúde (LACIBS) e Complexo Laboratorial de Nutrição, ambas localizadas na Universidade Federal do Tocantins, Campus Palmas.

Seleção da matéria-prima

Foram adquiridas, em lojas de produtos naturais, três amostras de folhas secas de *C. sinensis* L., para o preparo das infusões e três amostras de extratos solúveis em pó de *C. sinensis* L., para o preparo dos extratos solúveis reconstituídos. Para a escolha dos chás, levou-se em consideração a distinção de marcas e fornecedores.

Os extratos solúveis apresentavam em sua composição, de acordo com a lista de ingredientes, além do extrato de chá verde (*C. sinensis* L.): maltodextrina, edulcorante sucralose, acidulante ácido cítrico, aromatizantes artificiais e corante natural verde.

Preparo das amostras

Para o preparo das infusões, foram pesadas em balança de precisão, 5 gramas de folhas secas em becker de vidro, em seguida, verteu-se água potável e filtrada da rede, aquecida (~95°C) até completar 1L e deixado em contato por 5 minutos em temperatura ambiente. O conteúdo foi filtrado com papel filtro comercial, obtendo concentração final de 5 g/L de matéria seca.

Para o preparo dos extratos reconstituídos, foram pesadas em balança de precisão 5 gramas das amostras de extratos solúveis de *C. sinensis* L., em becker de vidro, diluídos em água potável e filtrada da rede à temperatura ambiente até completar 1L e agitadas manualmente com auxílio do bastão de vidro até completa dissolução. Logo após, foram filtradas em papel filtro comercial, obtendo concentração final de 5 g/L de matéria seca.

Os valores da razão de chá (g) e água (L) do preparo das amostras foram escolhidos levando em consideração a sua semelhança quanto ao preparo e consumo em geral dos chás pela população. Da mesma forma, utilizou-se água potável e filtrada da rede para as infusões e reconstituições dos extratos solúveis, e como solvente nas metodologias aplicadas para os experimentos.

Experimento

Para cada análise, foram realizados o preparo do chá infuso e dos extratos reconstituídos antes do início da mesma. Desta forma, antes da realização do experimento, os chás permaneceram em becker de vidro a temperatura ambiente, para uso imediato. Ao final do procedimento, os chás foram descartados. Não houve armazenamento de chás já preparados para utilização no dia seguinte.

Quantificação de fenólicos totais: utilizou a metodologia descrita por Bonoli et al.¹⁵ Alíquotas de 0,1 mL de amostra foram diluídas em 0,5 mL do reagente folin-ciocalteu e, posteriormente, acrescentados 6 mL de água destilada, sendo agitados em vortex por 1 minuto. Feito isso, adicionaram-se 2 mL de solução de carbonato de sódio a 15%, sendo novamente agitados por 30 segundos. Após repouso ao abrigo da luz por 2 horas, foi realizada a leitura em espectrofotômetro a 750 nm, usando como "branco" todos os reagentes, exceto o extrato. O teor de fenólicos totais foi determinado por interpolação da absorbância das amostras comparada

a uma curva de calibração feita com ácido gálico nas concentrações de 10 a 1000 µg/mL e expressos como µg equivalentes de ácido gálico (EAG) por mL de amostra.

Quantificação de taninos totais: foi utilizada adaptação da metodologia de complexação de taninos com proteínas.¹⁶ Em tubos contendo 1 mL das amostras, foram adicionados 100 mg de caseína e 1 mL de água destilada, sendo agitados por 1 minuto em vortex e posterior repouso ao abrigo da luz por 15 minutos para a complexação de tanino-proteína. Após o repouso, foram agitados novamente por 30 segundos, em seguida centrifugados a 5000 rpm por 4 minutos. Foram transferidos 0,2 mL dos sobrenadantes em tubos e repetido o protocolo de fenólicos totais para a determinação de fenólicos simples.

O teor de taninos totais foi calculado através da diferença entre os fenóis totais e os fenóis simples, uma vez que os taninos foram complexados e precipitados com a caseína.

Quantificação de taninos condensados: foi realizada através do método do butanol-HCl.¹⁷ Tubos contendo 0,3 mL das amostras foram adicionados de 1,8 de butanol-HCL 5%, agitados em vortex e colocados em banho-maria a 100° C por 70 minutos. Feito isso, foram resfriados em banho frio por 5 minutos para interrupção da reação. As amostras foram lidas em espectrofotômetro a 550 nm, sendo o branco de cada amostra os mesmos componentes, mas sem serem submetidos ao banho-maria. O teor de taninos condensados foi determinado por interpolação da absorbância das amostras em curva de calibração, feita com tanino purificado de *Pinus pinaster* nas concentrações de 10 a 500 µg/mL e expresso como µg de tanino / mL das amostras.

Quantificação de flavonoides: utilizou-se a metodologia descrita por Dewanto et al.¹⁸ Tubos contendo 0,25 mL das amostras foram adicionados de 1,25 mL de água destilada e agitados com 75 µl de solução aquosa de nitrito de sódio 5% e deixados em repouso por 6 minutos. Feito isso, foram adicionados 150 µl de solução aquosa de cloreto de alumínio 10%, agitados e deixados em repouso por mais 5 minutos. Em seguida, adicionou-se 0,5 mL de solução aquosa de hidróxido de sódio 1M e agitados novamente. Em seguida foram lidas as absorbâncias em espectrofotômetro a 510 nm, sendo o teor de flavonoides determinado por interpolação da absorbância das amostras em uma curva de calibração feita com quercetina nas concentrações de 0,1 a 5 mg/mL, expressos como mg de flavonoides por mL de amostra.

Teste de poder redutor do íon férrico: foi utilizada a metodologia do ferricianeto, otimizada por Berker et al.¹⁹ Em tubos contendo 1 mL das amostras (1 mL de água destilada para o branco) foram adicionados 6,3 mL de água, 0,2 mL de ácido clorídrico 1M, 1,5 mL de ferricianeto de potássio 1% e 0,5 mL de dodecilsulfato de sódio 1%. Após agitação, foi adicionado 0,5 mL de cloreto férrico 0,2% e agitados novamente. Após repouso ao abrigo da luz por 30 minutos, foram lidas as absorbâncias a 750 nm. Os resultados foram expressos em percentual de redução do ferro em comparação com os padrões quercetina e ácido ascórbico, ambos utilizados na mesma concentração dos extratos (1 mL).

Sequestro de radicais livres: utilizou-se metodologia com uso do radical 2,2-difenil-1-picril-hidrazil (DPPH).²⁰ Foram preparados 250 mL de solução estoque de DPPH em etanol absoluto, na concentração de 40 µg/mL, mantida sob refrigeração e protegida da luz. Foi construída curva de calibração nas concentrações de 40, 35, 30, 25, 20, 15, 10, 5 e 1 µg/mL, a partir dos valores da absorbância a 515 nm de todas as soluções, tendo como "branco" o etanol.

Diluições das amostras e dos padrões nas concentrações de 4, 8, 16, 31, 63, 125, 250, 500 e 1000 µg/mL foram obtidas e 0,3 mL de cada diluição foi reagido com 2,7 mL de solução estoque de DPPH. Para o "branco" foi usado etanol no lugar do DPPH, sendo feito um tubo "branco" para cada concentração. As leituras das absorbâncias das misturas reacionais foram realizadas a 515 nm após 1 hora. A partir da equação da curva de calibração de DPPH e dos valores de absorbância no tempo de 1 hora, para cada concentração testada foram determinados os valores de DPPH₆₀, que é a concentração remanescente de DPPH no meio reacional

após 60 minutos. Feito isso, foi calculado o percentual de DPPH remanescente (%DPPHRem), conforme a equação:

$$\%DPPHREM = [DPPH]_{T=t} / [DPPH]_{T=0} \times 100$$

onde $[DPPH]_{T=t}$ corresponde à concentração de DPPH após a reação com o extrato e $[DPPH]_{T=0}$ é a concentração inicial de DPPH, ou seja, 40 mg/mL.

A concentração eficiente, quantidade de amostra necessária para decrescer a concentração inicial de DPPH em 50% (CE_{50}), foi determinada a partir de uma curva analítica, obtida plotando-se na abscissa as concentrações da amostra ($\mu\text{g/mL}$) ou do controle positivo e na ordenada, a porcentagem de DPPH remanescente (% DPPHREM).

Açúcares redutores e não redutores: foi conduzida usando o reagente ácido 3-5-dinitrossalicílico (DNS).^{21,22} Para a quantificação de açúcares redutores (AR), foram usadas alíquotas de 0,5 mL dos extratos (0,5 ml de água destilada como branco) e agitados 0,5 mL do reagente, sendo colocados em banho-maria a 100°C por 15 minutos e, posteriormente, submetidos a banho de gelo por 5 minutos para interrupção da reação. As absorbâncias foram lidas a 540 nm e interpoladas em curva de calibração feita com solução de glicose anidra a 2 mg/mL, sendo os resultados expressos em mg de AR/mL de extrato.

Para os açúcares não redutores (ANR), alíquotas de 2 mL das amostras foram adicionadas de 2 mL de HCl 2M e submetidas a banho-maria a 100°C por 10 minutos para hidrólise dos açúcares, sendo posteriormente submetidas a banho de gelo por 5 minutos e agitadas com 2 mL de NaOH 2M para neutralização do ácido. Em seguida, alíquotas de 0,5 mL destas misturas foram submetidas ao mesmo tratamento dos AR. As absorbâncias foram plotadas na mesma curva de calibração anteriormente utilizada, e os resultados foram obtidos através da equação $ANR = A * 3 - AR$, sendo A o resultado obtido pela interpolação da absorbância da amostra na curva, multiplicados por 3 devido ao processo de diluição necessária ao processo de hidrólise das amostras, sendo posteriormente subtraídos pelo teor de açúcares redutores.

Para a discussão foram selecionados artigos na língua inglesa e portuguesa com metodologias mais semelhantes às utilizadas neste trabalho, nas plataformas: Google acadêmico, PubMed, SciELO e ScienceDirect, nos anos 2006 e 2017, visto que não foram encontrados artigos mais atuais utilizando a mesma amostra e metodologia deste estudo.

Análise estatística

Todas as análises foram realizadas em triplicatas. Os dados obtidos foram agrupados, calculados e analisados através de estatística descritiva, e para comparação entre médias foi utilizada análise de variância – ANOVA, de dois fatores, seguido de teste de Tukey, com nível de significância de 5%. Os cálculos das curvas de calibração e as análises estatísticas foram feitas através do *software* Microsoft Office Excel® 2013 e o programa estatístico Graph Pad Prism® 7.0.

RESULTADOS

Compostos fenólicos

Após o preparo das amostras do chá infuso e dos extratos solúveis, foram realizadas análises em triplicatas. Na tabela 1, estão dispostos os resultados de fenóis totais, flavonoides e taninos totais de infusões e extratos solúveis de *C. sinensis* L.

Tabela 1. Quantificação de fenólicos totais, flavonoides e taninos totais entre infusões e extratos solúveis de *C. sinensis* L., Palmas-TO, 2019.

	Fenólicos Totais ($\mu\text{gEAG/mL}$)	Flavonoide (mg/mL)	Taninos Totais ($\mu\text{g/mL}$)
	MÉDIA \pm DP*	MÉDIA \pm DP*	MÉDIA \pm DP*
Infusões			
Infusão 1	818,3 \pm 18,7 ^a	1,77 \pm 0,02 ^b	640,8 \pm 33,7 ^a
Infusão 2	206,2 \pm 9,8 ^c	1,54 \pm 0,04 ^c	105,4 \pm 9,15 ^c
Infusão 3	250,0 \pm 4,0 ^b	2,20 \pm 0,09 ^a	131,0 \pm 7,91 ^b
Extratos Solúveis			
Solúvel 1	129 \pm 4,5 ^d	0,20 \pm 0,01 ^d	92,78 \pm 2,32 ^d
Solúvel 2	78,4 \pm 7,6 ^e	0,09 \pm 0,00 ^d	56,62 \pm 9,88 ^{de}
Solúvel 3	14,36 \pm 1,2 ^f	0,06 \pm 0,09 ^d	7,46 \pm 1,52 ^e

*DP=Desvio padrão.

Colunas de médias com letras semelhantes não diferem estatisticamente entre si pelo teste de Tukey ($p < 0,05$).

De acordo com a tabela 1, os extratos infusos tiveram maior relevância em quantidades de fenólicos totais, com destaque para o infuso 1, que também apresentou maior teor de taninos e flavonoides, com o infuso 3.

Foi realizado também o teste de taninos condensados, mas apenas o infuso 1 obteve resultado positivo, com 64,3 \pm 2,91 μg de taninos/mL de amostra. Deve-se levar em consideração que a metodologia de taninos totais não é capaz de diferenciar o tipo de tanino presente na amostra; desta forma, os extratos podem ser ricos em taninos hidrolisáveis, por exemplo, mas pobres em taninos condensados.

Teste do poder redutor do Íon férrico

A tabela 2 demonstra a atividade antioxidante de infusões e extratos solúveis de *C. sinensis* L. pelo teste do poder redutor do íon férrico, em comparação aos padrões quercetina e ácido ascórbico.

Tabela 2. Poder redutor entre infusões e extratos solúveis de *C. sinensis* L., comparados aos padrões quercetina e ácido ascórbico. Palmas-TO, 2019. Fonte: Dados encontrados pelo autor.

	Poder redutor (Absorbância) Média \pm DP*	% de Redução (padrão quercetina)	% de Redução (padrão ácido ascórbico)
Padrões			
Ácido ascórbico	3,18 \pm 0,13 ^a	--	--
Quercetina	1,79 \pm 0,0 ^b	--	--
Infusões			
Infusão 1	2,92 \pm 0,13 ^c	162	88,4
Infusão 2	2,3 \pm 0,04 ^d	128,3	75,7
Infusão 3	2,05 \pm 0,08 ^e	114,6	63,9
Extratos Solúveis			
Solúvel 1	1,77 \pm 0,01 ^a	98,1	53,6
Solúvel 2	1,47 \pm 0,06 ^f	82,2	48,5
Solúvel 3	0,22 \pm 0,0 ^b	12,4	6,9

*DP=Desvio padrão.

Colunas de médias com letras semelhantes não diferem estatisticamente entre si pelo teste de Tukey ($p < 0,05$).

Conforme a tabela acima, todos os extratos infusos demonstraram poder de redução maior que os solúveis. O infuso 1 se destacou por apresentar uma porcentagem de redução mais próxima ao padrão-ouro ácido ascórbico (88,4%).

Sequestro de radicais livres

Na tabela 3 está representada a capacidade antioxidante de infusões e extratos solúveis de *C. sinensis* L., através da porcentagem de DPPH remanescente em comparação aos padrões quercetina e BHT, pelo experimento do sequestro de radicais livres.

Tabela 3. Valores de DPPH remanescente de infusões e extratos solúveis de *C. sinensis* L. e dos padrões BHT e quercetina. Palmas-TO, 2019. Fonte: Dados coletados pelo autor

	Amostras Concentrações (%)								
	04 µg/mL	08 µg/mL	16 µg/mL	32 µg/mL	63 µg/mL	125 µg/mL	250 µg/mL	500 µg/mL	1000 µg/mL
Infusões									
Infuso 1	79,7 ^{aA}	68 ^{aA}	57 ^{aA}	30 ^{abA}	6,8 ^{aA}	5,9 ^{aA}	5,8 ^{aA}	4,8 ^{aA}	4,4 ^{aA}
Infuso 2	89,8 ^{aB}	89,2 ^{aB}	88,7 ^{aB}	84,9 ^{aB}	73,8 ^{bB}	61,2 ^{abB}	32,3 ^{abB}	8,6 ^{aB}	7,1 ^{aB}
Infuso 3	86,4 ^{aB}	84,9 ^{aB}	81,0 ^{aB}	77,6 ^{aB}	68 ^{bcB}	49,0 ^{abB}	15,2 ^{aB}	6,2 ^{aB}	5,3 ^{aB}
Extratos solúveis									
Solúvel 1	88,9 ^{aB}	86,7 ^{aB}	79 ^{aB}	75,6 ^{aB}	69 ^{bB}	52 ^{abB}	29,2 ^{abB}	5 ^{aB}	4,7 ^{aB}
Solúvel 2	90 ^{aBC}	90 ^{aBC}	88 ^{aBC}	83 ^{aBC}	76 ^{bBC}	61,4 ^{abBC}	41 ^{abBC}	15,2 ^{abBC}	5,3 ^{aBC}
Solúvel 3	91,1 ^{aC}	88 ^{aF}	86,5 ^{aC}	86,1 ^{aC}	85,8 ^{bC}	85 ^{bC}	77,5 ^{bC}	68,2 ^{bC}	51,3 ^{aC}
Padrões									
BHT	92,7 ^{aB}	90,6 ^{aB}	87,9 ^{aB}	80,9 ^{aB}	70,2 ^{bB}	52,3 ^{abB}	38,5 ^{abB}	20,3 ^{abB}	5,6 ^{aB}
Quercetina	61,2 ^{aA}	44,7 ^{aA}	40,8 ^{aA}	6,9 ^{bA}	5,4 ^{adA}	5,4 ^{acA}	5,4 ^{aA}	5,4 ^{aA}	5,4 ^{aA}

Colunase linhas de médias com letras semelhantes não diferem estatisticamente entre si pelo teste de Tukey ($p < 0,05$).

Letras minúsculas correspondem a estatísticas entre as concentrações, de acordo com as colunas.

Letras maiúsculas correspondem a estatística entre grupos, de acordo com as linhas.

Quanto à tabela 3, notamos que o infuso 1 foi o que apresentou melhor capacidade de sequestro do radical livre (DPPH). A %DPPHRem foi sendo reduzida proporcionalmente ao aumento da concentração da infusão, apresentando atividade antioxidante semelhante ao padrão quercetina e superior ao padrão BHT. Já o solúvel 3 se destacou, pois, mesmo em concentrações maiores sua atividade antioxidante foi inferior em comparação às infusões e demais extratos solúveis.

A atividade antioxidante de infusões e extratos solúveis de *C. sinensis* L. também foi expressa em valores de CE₅₀, como observado na tabela 4.

Tabela 4. Valores de CE₅₀ de infusões e extratos solúveis de *C. sinensis* L. Palmas-TO, 2019. Fonte: Dados coletados pelo autor.

	CE ₅₀ (mg/mL) Média ± DP*
Infusões	
Infuso 1	17,49 ± 0,09
Infuso 2	154,92 ± 10,35
Infuso 3	109,38 ± 8,32
Extratos Solúveis	
Solúvel 1	116,47 ± 7,45
Solúvel 2	190,11 ± 4,43
Solúvel 3	1026,15 ± 94,09
Padrões	
Quercetina	7,606 ± 0,83
BHT	168,74 ± 0,07

*DP=Desvio padrão.

Os resultados de capacidade antioxidante expressos em concentração eficiente (CE₅₀) (Tabela 4) ou também chamada de coeficiente de inibição (IC₅₀), representa a concentração capaz de inibir 50% da concentração inicial do radical livre DPPH. ²³ Valores mais baixos para CE₅₀ indicam maior atividade antioxidante.²⁴

O infuso 1 demonstrou maior capacidade antioxidante em comparação com as demais amostras, com o menor valor para CE₅₀ (Tabela 4).

Açúcares

Na tabela 5 estão descritos os resultados em médias dos teores de açúcares redutores e não redutores de infusões e extratos solúveis de *C. sinensis* L.

Tabela 5. Conteúdo de açúcares redutores e não redutores em amostras de infusões e extratos solúveis de *Camellia sinensis* L. Palmas-TO, 2019.

	AÇÚCARES REDUTORES (mg/mL)	AÇÚCARES NÃO REDUTORES (mg/mL)
	MÉDIA± DP*	
Infusões		
Infuso 1	1±0,01 ^d	0,3±0,06 ^c
Infuso 2	0,3±0,01 ^f	0,2±0,02 ^c
Infuso 3	0,9±0,00 ^e	0,1±0,01 ^c
Extratos Solúveis		
Solúvel 1	1,9±0,04 ^b	2,0±0,24 ^a
Solúvel 2	2,1±0,03 ^a	1,6±0,07 ^b
Solúvel 3	1,4±0,03 ^c	2,0±0,22 ^a

*DP=Desvio padrão.

Colunas de médias com letras iguais não diferem estatisticamente entre si pelo teste de Tukey (p<0,05).

Ao contrário dos demais testes, para a quantidade de açúcares redutores e não redutores por mL da amostra, os extratos solúveis se destacaram com teores elevados.

DISCUSSÃO

Compostos fenólicos

Na literatura também foi encontrado elevado conteúdo de fenólicos totais em infusões aquosas de *C. sinensis* L. Moraes-De-Souza et al.²³ utilizaram a mesma metodologia, porém com concentração de 1:100 (p/v). Ao compararem com outras ervas, verificaram maior conteúdo de fenólicos totais no chá verde, entre 59,18 ± 0,78 a 103,98 ± 0,19mg EAG/g (59.180 ± 0,78 a 103.980 ± 0,19µg EAG/mL) de chá. Sousa⁷ analisou o conteúdo de fenólicos totais na concentração de 1:10(p/v), tendo um resultado de 6.519,12mg EAG/L (6.519,12µg EAG/mL). Ambos realizaram os testes com extratos mais concentrados em relação a este estudo, que é 5:1000 (p/v), e alcançaram valores bem maiores de fenólicos totais.

Camargo et al.²⁵ também em estudo de infusões de *C. sinensis* L., dessa vez na concentração de 5:25(p/v), encontraram valores de fenólicos totais de 76,00 ± 0,162µg/mL. E Zielinski et al.,²⁶ em estudos com diversos

chás sob infusão aquosa de 2:100 (p/v), obtiveram valores para fenólicos totais de 100,45 a 1.034,48 mg EAG/L (100,45 a 1.034,48 µg EAG/mL). Apesar das divergências quanto às concentrações utilizadas tanto de extratos infusos como dos reagentes utilizados na metodologia, esses autores alcançaram resultados convergentes ao presente estudo.

Zielinski et al.²⁶ também realizaram a quantificação do conteúdo de flavonoides nas mesmas concentrações do teste de fenóis, encontrando valores entre 0,034 a 0,179 mg de catequinas/mL, utilizando metodologia parecida, mas com resultados abaixo dos encontrados neste estudo com infusões, aproximando-se dos valores encontrados aqui em amostras de extratos solúveis. Pereira et al.,²⁴ em estudo com extratos de *C. sinensis* L. preparados sob infusão aquosa na concentração de 1:100 (p/v), encontraram valores médios de flavonoides de 8,30 mg/g (0,008 mg/mL), e quando comparados com o chá preto e o branco, o chá verde e o branco apresentaram teores mais elevados de flavonoides, sendo esses valores, mais baixos que os encontrados aqui. No entanto, os estudos confirmam, assim como o atual, que o chá de *C. sinensis* L. apresenta quantidades significativas de fenólicos totais e flavonoides.

Em média, nas literaturas foram exibidos valores bem mais altos em comparação ao presente estudo. Isso pode ser explicado pelas divergências nas concentrações, variação no modo de preparo quanto a temperatura e tempo de infusão, e os diversos tipos de marcas, método de armazenamento, processamento e cultivo das amostras empregadas.²⁷

De acordo com Nibir et al.,²⁸ as infusões de variedades diferentes de *C. sinensis* L. na concentração de 50:300 (p/v), com posterior liofilização, obtiveram resultados para fenólicos totais de 26,33 ± 1,73 mg EAG/g extrato (26,330 ± 1,73 µg EAG/mL) extrato. Esse mesmo estudo quantificou também flavonoides, resultando em 50,12 ± 0,6 mg/g (0,050 ± 0,6 mg/mL) para o chá verde, que em comparação com outras variedades foi o que alcançou maior quantidade de compostos fenólicos e flavonoides. Em comparação ao extrato solúvel realizado no presente estudo, os valores encontrados para fenólicos totais foram maiores, já para flavonoides foram próximos.

Deve-se levar em consideração, entretanto, que o extrato solúvel aqui adquirido não passou pelo mesmo processo de liofilização do extrato aquoso, ele já foi adquirido em pó solúvel, o que corrobora para uma provável quantificação reduzida de compostos fenólicos. Não foram encontrados na literatura, porém, estudos com extratos solúveis que se assemelhem ao realizado neste artigo, dificultando a comparação entre amostras.

Em relação aos taninos totais, não foram encontrados na literatura estudos que utilizem *C. sinensis* L. tanto em infusões quanto em extratos solúveis para tal quantificação. Dessa forma, os resultados encontrados são de grande valia para a caracterização dessa erva.

Teste do poder redutor do Íon férrico

Na literatura, ao analisar o poder redutor férrico (FRP) em folhas de *C. sinensis* L., são encontradas diferentes formas de realizar o método e de expressar os resultados, o que dificulta a obtenção de uma comparação precisa.

Chan et al.²⁹ compararam chás de ervas tropicais e temperadas com variações de chá da *C. sinensis* L., o verde, *oolong* e o preto em infusões na concentração de 1:50 (p/v), utilizando o mesmo método empregado aqui, porém com resultados expressos em mg GAE/g. Apesar disso, o chá da *C. sinensis* L. obteve resultados superiores às outras amostras, tendo o extrato infuso do chá verde maior atividade redutora que o *oolong* e preto. Já Chan et al.³⁰ utilizaram infusões nas mesmas concentrações, mas realizaram extrações aquosas e

metanólica de 1:50(p/v) para ambas; e um método divergente do utilizado no presente estudo empregou o poder antioxidante redutor de ferro (FRAP). Os valores encontrados foram de 126 ± 4.5 mg GAE/g para extração com metanol e 123 ± 10.8 mg EAG/g para extração aquosa.

Nibir et al.,²⁸ que utilizaram extrato em pó a partir da liofilização do extrato aquoso, já descrito na discussão de fenóis totais e flavonoides, também quantificaram a capacidade antioxidante pelo método FRAP. O chá verde exibiu a maior atividade redutora, $102,33 \pm 1,02$ mg EAG/g, diferenciando-se das outras variedades de chá.

Ao comparar com outras literaturas, deve-se levar em consideração que o poder redutor da *C. sinensis* L. ou de outras amostras pode ocorrer através de várias metodologias compatíveis. As literaturas citadas abordaram esses resultados em diferentes metodologias, tipos de extratos e concentrações divergentes, além de amostras oriundas e cultivadas em diferentes lugares. Tudo isso compromete a comparação dos dados.

Neste estudo escolheu-se a extração aquosa, por esta se relacionar com a forma em que os chás da *C. sinensis* L. são consumidos, e assim, conhecer suas propriedades nessa condição. Além disso, a utilização de solventes orgânicos em metodologias pode torna-las mais onerosas, demoradas, perigosas por conter substâncias tóxicas, além de gerar resíduos poluentes.³¹

Sequestro de radicais livres

Para a porcentagem de atividade antioxidante, encontrou-se na literatura capacidade antioxidante maior para infusões de *C. sinensis* L., assim como neste estudo. Zielinski et al.,²⁶ com amostras em concentração 2:100(p/v), encontraram porcentagens entre 12,64 e 68,60% de redução. Já Guimarães,³² utilizando concentrações 1:100(p/v) para o chá verde, alcançou o valor de 89,26%.

Já em relação ao CE₅₀, na literatura foram descritos valores próximos aos resultados aqui destacados. Estudos de infusões de *C. sinensis* L., em comparação a outros chás, se destacaram com a melhor capacidade antioxidante. Pereira et al.²⁴ encontraram valores de CE₅₀ variando entre 13,51 e 35,10 µg/mL, em extratos com concentrações de 1:100(p/v). Na mesma concentração, Moraes-De-Souza et al.²³ acharam valores inferiores a 150 µg/mL e Camargo et al.,²⁵ utilizando concentrações de 5:25(p/v), acharam 14.45 ± 0.09 µg/mL.

Para o método de DPPH, não foram encontrados na literatura estudos que utilizassem extratos solúveis de *C. sinensis* L. adquiridos no comércio como o estudado aqui. Destaca-se a importância deste estudo quanto a sua utilização pela população.

Açúcares

Valores mais altos de açúcares encontrados em amostras de extratos solúveis podem sugerir a presença de maltodextrina e edulcorante sucralose, adicionados em bebidas como forma de adoçá-las, como se observou na lista de ingredientes das amostras deste estudo, ao contrário das infusões, que utilizam partes das plantas in natura. Isso pode servir de alerta para os consumidores, que utilizando chás solúveis como forma de usufruir do seu benefício antioxidante, podem estar consumindo também carboidratos e aditivos adicionados a esses produtos.

Não foi possível realizar a comparação e discussão dos resultados de açúcares redutores e não redutores com a literatura. Devido ausência de estudos que investigassem açúcares em amostras de *C. sinensis* L. Esse fato indica a importância deste estudo para o campo científico.

CONCLUSÃO

Tendo em vista os resultados obtidos no presente estudo, ficam evidentes o maior potencial antioxidante e a presença de fenólicos em infusões de *C. sinensis* L., quando comparadas aos extratos solúveis, que por sua vez apresentaram maior conteúdo de açúcares redutores e não redutores.

REFERÊNCIAS

1. FAO - Food and Agriculture Organization of the United Nations. Global tea consumption and production driven by robust demand in China and India; 2019. [acesso 5 dez. 2019]. Disponível em: <http://www.fao.org/news/story/pt/item/1136255/icode/>
2. Braibante MEF, da Silva D, Braibante HTS, Pazinato MS. A Química dos Chás. Quím nova esc.2014;0(0):1-8.
3. Brasil. Anvisa - Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Resolução RDC nº 277, de 22 de setembro de 2005. Aprova o "Regulamento técnico para café, cevada, chá, erva-mate e produtos solúveis". Diário Oficial da União. 2005 set. 23; Seção 1.
4. Senger AEV, Schwanke CH, Gottlieb MG. Chá verde (*Camellia sinensis*) e suas propriedades funcionais nas doenças crônicas não transmissíveis. Sci Med. 2010;20(51):292-300.
5. Nobre Júnior HV, Silva GR, Santos Júnior ADF, Cavalcanti BC, Magalhães HIF, Pereira FF, et al. Fitoterápicos Aplicados a Obesidade. DEMETRA Aliment Nutr Saúde. 2016;11(2):473-92. <https://doi.org/10.12957/demetra.2016.19154>
6. Conceição MDS, Ferreira CCD, Nascimento KO. O papel coadjuvante das catequinas do chá verde (*Camellia sinensis*) na redução da adiposidade. Revista Verde. 2014;9(5):47-54.
7. Sousa LS. Extração e purificação dos compostos fenólicos presentes nas folhas de *Camellia* [Dissertação de mestrado]. Uberlândia: Universidade Federal de Uberlândia; 2016.
8. Lorenzo JM, Munekata PES. Phenolic compounds of green tea: Health benefits and technological application in food. Asian Pac J Trop Biomed. 2016;6(8):709-19. <https://doi.org/10.1016/j.apjtb.2016.06.010>
9. Santos L, Lima CP, Gonçalves AM, Savi PDRS, Biesek S. Análise de flavonoides totais presentes em algumas frutas e hortaliças convencionais e orgânicas mais consumidas na região sul do Brasil. DEMETRA: Alimentação Nutrição & Saúde. 2017;12(1):275-88. <https://doi.org/10.12957/demetra.2017.22391>
10. Santos UVS, Santos BS, Da Silva GF, Constant PBL, Dos Santos JAB. Avaliação de potencial de ervas medicinais: capim-limão (*Cymbopogon Citratus* D. C.), chá verde (*Camellia sinensis* L.) e hibisco (*Hibiscus sabdariffa* L.) para obtenção de chás solúveis. Revista GEINTEC. 2014;4(4):1399-408. <https://doi.org/10.7198/geintec.v4i4.566>
11. Duboc PP. Determinação de arsênio, cádmio e chumbo nas folhas e na infusão de chás de *Camellia sinensis* comercializados no Rio de Janeiro, Brasil. [Dissertação de Pós-graduação]. Rio de Janeiro: INCQS/FIOCRUZ; 2015.
12. Nishiyama MF, Costa MAF, Costa AM, Souza CGM, BÔER CG, BRACHT, CK.; Chá verde brasileiro (*Camellia sinensis* var *assamica*): efeitos do tempo de infusão, acondicionamento da erva e forma de preparo sobre a eficiência de extração dos bioativos e sobre a estabilidade da bebida. Ciência e Tecnol Aliment. 2010;30:191-6. <https://doi.org/10.1590/S0101-20612010000500029>
13. Firmino LA, Miranda MPS. Polifenóis totais e flavonoides em amostras de chá verde (*Camellia sinensis* L.) de diferentes marcas comercializadas na cidade de Salvador-BA. Rev Bras Plantas Med. 2015;17(3):436-43. https://doi.org/10.1590/1983-084X/11_041.
14. Silva CMG da, Braga MA, Sobral VRV, Martinez CAR, Carvalho P de O. Avaliação Da Atividade Antioxidante in Vitro Dos Chás Mate E Verde Antes E Após a Biotransformação Por Lipases *. Aliment e Nutr Araraquara. 2012;23(4):661-9.
15. Bonoli M, Verardo V, Marconi E, Caboni MF. Antioxidant Phenols in Barley (*Hordeum vulgare* L.) Flour: Comparative Spectrophotometric Study among Extraction Methods of Free and Bound Phenolic Compounds. J Agric Food Chem. 2004; 52: 5195-5200. <https://doi.org/10.1021/jf040075c>
16. Amorim ELC, Nascimento JE, Monteiro JM, Peixoto-Sobrinho TJS, Araújo TAS, Albuquerque UP. A simple and accurate procedure for the determination of tannin and flavonoid levels and some applications in ethnobotany and ethnopharmacology. Funct. Ecosyst Communities. 2008; 2:88-94.
17. Schofield P, Mbugua DM, Pell AN. Analysis of condensed tannins: a review. Animal Feed Science and Technology. 2001; 91: 21-40. DOI: 10.1016 / S0377-8401 (01) 00228-0

18. Dewanto V, Wu X, Adom KK, Liu RH. Thermal Processing Enhances the Nutritional Value of Tomatoes by Increasing Total Antioxidant Activity. *J Agric Food Chem.* 2002; 50:3010-14. <https://doi.org/10.1021/jf0115589>
19. Berker KI, Güçlü K, Tor I, Demirata B, Apak R. Total Antioxidant Capacity Assay Using Optimized Ferricyanide/Prussian Blue Method. *Food AnalMethods.*2010; 3:154-168.
20. Pereira RJ, Cardoso MG, Gomes MS, Andrade MA, Pereira RJ. Potencial Antioxidante de Frutos de Duas Espécies de Jambolão: *Syzygium cumini* (L.) Skeels e *Syzygium paniculatum* Gaertn. *Revista SPCNA.*2012; 18(3): 63-70.
21. Maldonado IR, Carvalho PGB, Ferreira NA. Protocolo para determinação de açúcares totais em hortaliças pelo método de DNS. Brasília: Embrapa Agroindústria Tropical 2013.
22. Vasconcelos LM, Pinto GAS, Aragão FAS. Determinação de Açúcares Redutores pelo Ácido 3,5-Dinitrosalicílico: Histórico do Desenvolvimento do Método e Estabelecimento de um Protocolo para o Laboratório de Bioprocessos. Fortaleza: Embrapa Agroindústria Tropical, 2013.
23. Moraes-De-Souza RA, Oldoni TLC, Cabral ISR, De Alencar SM. Compostos fenólicos totais e atividade antioxidante de chás comercializados no Brasil. *B. CEPPA.* 2011;29(2):229-36. <http://dx.doi.org/10.5380/cep.v29i2.25488>
24. Pereira VP, Knor, FJ, Velloso, JCR, Beltrame, FL. Determination of phenolic compounds and antioxidant activity of green, black and white teas of *Camellia sinensis* (L.) Kuntze, Theaceae. *Rev bras plantas med.* 2014; 16(3): 1-9. https://doi.org/10.1590/1983-084X/13_061
25. Camargo LEA, Pedrosa LS, Vendrame SC, Mainardes RM, Khalilb NM. Antioxidant and antifungal activities of *Camellia sinensis* (L.) Kuntze leaves obtained by different forms of production. *Braz J Biol.* 2016; 76(2): 428-34. <https://doi.org/10.1590/1519-6984.18814>
26. Zielinski AAF, Haminiuk CWI, Alberti A, Nogueira A, Demiate IM, Granato D. A. Comparative study of the phenolic compounds and the in vitro antioxidant activity of different Brazilian teas using multivariate statistical techniques. *Food Research International.* 2013; 60(2014): 246-54. <http://dx.doi.org/10.1016/j.foodres.2013.09.010>
27. Saito ST. Estudo químico e avaliação da atividade antioxidante de chá-verde Brasileiro (*Camellia sinensis* var. *assamica*) Cultivar IAC-259 [Dissertação de mestrado]. Porto Alegre: Universidade Federal do Rio Grande do Sul; 2007.
28. Nibir YM, Sumit AF, Akhand AA, Ahsan N, Hossain MS. Comparative assessment of total polyphenols, antioxidant and antimicrobial activity of different tea varieties of Bangladesh. *Asian Pac J Trop Biomed.* 2017; 7(4): 352-357. <https://doi.org/10.1016/j.apjtb.2017.01.005>
29. Chan EWC., Lim YY, Chong KL, Tan JBL, Wong SK. Antioxidant properties of tropical and temperate herbal teas. *J Food Compos Anal.* 2009;23(2010): 185-189. <https://doi.org/10.1016/j.jfca.2009.10.002>
30. Chan EWC., Lim YY, Chew YL. Antioxidant activity of *Camellia sinensis* leaves and tea from a lowland plantation in Malaysia. *Food Chem.* 2006;102(2007): 1214-22. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2006.07.009>
31. Azevedo RSA, Teixeira BS, Sauthier MCdaS, Santana MVA, Walter WNLdosS, Santana DdeA. Multivariate analysis of the composition of bioactive in tea of the species *Camellia sinensis*. *Food Chem.*2018;273 (2019): 39-44. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2018.04.030>.
32. Guimarães RD. Ação antioxidante in vitro e in vivo da *Camellia sinensis* nas formas de chá verde, chá preto e chá branco [dissertação de mestrado]. Lavras: Universidade Federal de Lavras; 2011

Colaboradores

Boyarski DRS e Barbosa DRR atuaram na realização dos testes em laboratório, análise e interpretação de resultados e auxiliou na formatação e escrita do artigo; Clemente RC participou como orientador, auxiliando em todas as etapas da realização do artigo. Atuou diretamente desde a escolha do tema, objetivos e metodologias até a revisão e correção da escrita e formatação da versão final do artigo.

Conflito de Interesses: As autoras declaram não haver conflito de interesses.

Recebido: 02 de agosto de 2019

Aprovado: 21 de janeiro de 2020

