



UNIVERSIDADE FEDERAL DO MARANHÃO
CENTRO DE CIÊNCIAS EXATAS E TECNOLOGIA
Coordenação do Curso de Química Licenciatura e Bacharelado
Trabalho de Conclusão de Curso – TCC

**AVALIAÇÃO DA CAPACIDADE ANTIOXIDANTE DOS FRUTOS BURITI E
JUÇARA USANDO TÉCNICAS ELETROQUÍMICAS E
ESPECTROFOTOMÉTRICAS**

VICTOR LEANDRO FERREIRA PINHEIRO

SÃO LUÍS – MA

2020

VICTOR LEANDRO FERREIRA PINHEIRO

**AVALIAÇÃO DA CAPACIDADE ANTIOXIDANTE DOS FRUTOS BURITI E
JUÇARA USANDO TÉCNICAS ELETROQUÍMICAS E
ESPECTROFOTOMÉTRICAS**

Monografia apresentada junto à Coordenação do Curso de Química da Universidade Federal do Maranhão como um dos requisitos para obtenção do grau de licenciado em Química.

Orientadora: Prof^a. Dr^a. Isaide de Araujo Rodrigues

São Luís – MA

2020

Ficha gerada por meio do SIGAA/Biblioteca com dados fornecidos pelo(a) autor(a).
Núcleo Integrado de Bibliotecas/UFMA

Ferreira Pinheiro, Victor Leandro.

AVALIAÇÃO DA CAPACIDADE ANTIOXIDANTE DOS FRUTOS BURITI
E JUÇARA USANDO TÉCNICAS ELETROQUÍMICAS E
ESPECTROFOTOMÉTRICAS / Victor Leandro Ferreira Pinheiro. -
2020.

42 f.

Orientador(a): Isaide de Araujo Rodrigues.

Monografia (Graduação) - Curso de Química, Universidade
Federal do Maranhão, São Luís - Ma, 2020.

1. Antioxidante. 2. Buriti. 3. EC50. 4. Índice
Eletroquímico. 5. Juçara. I. de Araujo Rodrigues,
Isaide. II. Título.



**AVALIAÇÃO DA CAPACIDADE ANTIOXIDANTE DOS FRUTOS BURITI E
JUÇARA USANDO TÉCNICAS ELETROQUÍMICAS E
ESPECTROFOTOMÉTRICAS**

VICTOR LEANDRO FERREIRA PINHEIRO

ESTA MONOGRAFIA FOI JULGADA ADEQUADA COMO UM DOS REQUISITOS
OBRIGATÓRIOS PARA OBTENÇÃO DO GRAU DE **LICENCIADO EM QUÍMICA**.

Aprovada em _____ de _____ de _____

BANCA EXAMINADORA

Prof.^a Dr.^a Isaide de Araujo Rodrigues

Prof. Dr. Joacy Batista de Lima

Prof. Dr. Ulisses Magalhães Nascimento

Dedico esse trabalho aos meus pais, que foram minha principal fonte de apoio na minha jornada acadêmica e que nunca mediram esforços para que eu seguisse esse caminho.

AGRADECIMENTOS

Em primeiro lugar, aos meus pais, Cristiane Joelma e Francisco Nazareno por todo o esforço, tempo, apoio e recursos gastos para me ajudar nessa longa e tortuosa jornada.

À minha orientadora, Prof^a. Dr^a. Isaide de Araujo Rodrigues, pelo incentivo orientação e auxílio.

Aos meus colegas de laboratório GELQ que cederam seu tempo para me ajudar nas análises e sempre se mostraram disponíveis para dar instruções.

Aos meus amigos da UFMA do Curso de Química, no qual compartilhamos tantos momentos de felicidade, aprendizado e apreensão, em especial a Yuri Ramos, Igor Moraes e Sheila Bianca.

Aos meus amigos e colegas diretores do diretório acadêmico de química, em especial Alan Pacheco, Karla Giovanna, Anderson Ricardo e Antônio Gomes, pelos muitos momentos de risos e descontração, além de muito trabalho, é claro.

À FAPEMA pelo aporte financeiro ao projeto vinculado a este trabalho.

*“Se o duro combate
Os fracos abate,
Aos fortes, aos bravos
Só pode exaltar.”*
Gonçalves Dias

RESUMO

Sabe-se que os radicais livres têm a capacidade de reagir com diversas partes das células, causando, assim, vários danos que podem provocar doenças de diversas naturezas. Uma forma de reduzir esses efeitos deletérios à saúde humana é através da ação dos antioxidantes, uma vez que estes impedem essas reações danosas dos radicais livres. Tendo em vista esses fatos, o objetivo do presente trabalho foi avaliar a capacidade antioxidante de duas frutas típicas do estado do Maranhão: o buriti e a juçara. Para esta análise foi usado métodos eletroquímicos e espectrofotométricos. Na análise espectrofotométrica usou-se o método do radical livre DPPH (2,2-difenil-1-picril-hidrazil) para determinar a concentração eficiente (EC_{50}), que representa a quantidade de extrato para produzir 50% de descoloração do DPPH. Para cada ensaio dissolveu-se uma certa quantidade da polpa da fruta na solução extratora (metanol/HCl 99:1), logo em seguida foi colocada no aparelho de ultrassom por 20 minutos. Nas análises eletroquímicas foi usada a técnica de voltametria de pulso diferencial - que é bastante sensível - num eletrólito de suporte de solução KCl /HCl (conc) em pH= 2,2. Para avaliação da capacidade antioxidante dos frutos foi calculado o índice eletroquímico (IE), obtido pela soma das razões entre corrente de pico e potencial de pico. Os resultados espectrofotométricos e eletroquímicos dos extratos das frutas foram comparados com os da catequina – um polifenol muito usado como padrão em estudos de capacidade antioxidante, por ter um grande poder redutor. Uma boa correlação entre esses dois valores - EC_{50} e – foi encontrada, os dois valores apontam que a juçara tem maior poder antioxidante em relação ao buriti.

Palavras-chave: antioxidante, buriti, juçara, EC_{50} , Índice eletroquímico

ABSTRACT

It is known that free radicals have the ability to react with different parts of the cells, thus causing various damages that can cause diseases of different natures. One way to reduce these harmful effects on human health is through the action of antioxidants, since they prevent these damaging reactions from free radicals. In view of these facts, the objective of the present work was to evaluate the antioxidant capacity of two typical fruits of the state of Maranhão: buriti and juçara. For this analysis, electrochemical and spectrophotometric methods were used. In the spectrophotometric analysis, the DPPH free radical method (2,2-difenil-1-picril-hidrazil) was used to determine the efficient concentration (EC_{50}), which represents the amount of extract to produce 50% DPPH discoloration. For each test a certain amount of the fruit pulp was dissolved in the extraction solution (methanol / HCl 99: 1), immediately afterwards it was placed in the ultrasound machine for 20 minutes. In electrochemical analyzes, the differential pulse voltammetry technique - which is very sensitive - was used in a support electrolyte of KCl /HCl (conc) solution at pH = 2.2. To evaluate the antioxidant capacity of the fruit, the electrochemical index (IE) was calculated, obtained by summing the ratios between peak current and peak potential. The spectrophotometric and electrochemical results of the fruit extracts were compared with those of catechin - a polyphenol widely used as a standard in studies of antioxidant capacity, as it has a great reducing power. A good correlation between these two values – EC_{50} and IE - was found, the two values indicate that juçara has greater antioxidant power compared to buriti.

Keyword: antioxidant, buriti, juçara, EC_{50} , Electrochemical index

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 Estrutura geral dos flavonoides.....	18
Figura 2 Foto do fruto buriti	19
Figura 3 Foto do fruto juçara	20
Figura 4 Estrutura química do DPPH e reação com antioxidante [35]	21
Figura 5 Célula para medidas eletroquímicas	25
Figura 6 Voltamograma de pulso diferencial da catequina 10 μM em ECV, tendo como eletrólito de suporte tampão KCl - HCl em pH 2,2.....	28
Figura 7 Voltamograma de pulso diferencial do extrato da fruta buriti em ECV, tendo como eletrólito de suporte tampão KCl - HCl em pH 2,2.....	29
Figura 8 Voltamograma de pulso diferencial do extrato da fruta juçara em ECV, tendo como eletrólito de suporte tampão KCl - HCl em pH 2,2.....	30
Figura 9 Absorbância de extratos de frutas e da catequina com tempo de incubação, na mistura de reação de 80 μM de DPPH em metanol: (A) catequina e (B) extratos das frutas.....	33

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 Lista de reagentes utilizados e suas respectivas procedências	24
Tabela 2 Medidas das absorbâncias em 516nm ao longo do tempo para o padrão de catequina.....	31
Tabela 3 Medidas das absorbâncias em 516nm ao longo do tempo para extrato do fruto buriti	32
Tabela 4 Medidas das absorbâncias em 516nm ao longo do tempo para o extrato da fruta juçara	32
Tabela 5 EC ₅₀ e EI obtidos para os extratos das frutas e padrão de catequina	34

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

ABTS	Azino-bis-(3-etil-benzotiazolina-6-ácido sulfônico)
DNA	Ácido desoxirribonucleico
DPPH	2,2-difenil-1-picril-hidrazil
E	Potencial
EC₅₀	Concentração eficiente
E_p	Potencial de pico
EVC	Eletrodo de carbono vítreo
IE	Índice eletroquímico
I_p	Corrente de pico
UV- Vis	Espectrofotometria de ultravioleta e visível
VC	Voltametria cíclica
VPD	Voltametria de pulso diferencial
λ	Comprimento de onda

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO	13
1.1. Introdução Geral	13
1.2 Justificativa do Tema	14
2. OBJETIVOS	16
2.1. Objetivo Geral	16
2.2. Objetivos Específicos	16
3. FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA	17
3.1. Atividade Antioxidante	17
3.2. Buriti e Juçara	18
3.3. Métodos de Determinação da Atividade Antioxidante	21
4. PARTE EXPERIMENTAL	24
4.1. Reagentes, soluções e amostras	24
4.2. Limpeza do material	24
4.3. Instrumentação	25
4.3.1. Medidas eletroquímicas	25
4.3.2 Medidas espectrofotométricas	26
4.3.3 Preparação da amostra	26
5. RESULTADO E DISCUSSÃO	28
5.1 Estudo eletroquímico das polpas das frutas	28
5.2 Caracterização espectrofotométrica	31
6. CONCLUSÃO	35
Referências	36

1. INTRODUÇÃO

1.1. Introdução Geral

É de conhecimento popular que o consumo de frutas apresenta benefícios na saúde dos seres humanos. Graças às pesquisas recentes, sabemos que muitos desses benefícios - incluindo redução dos riscos de doenças cardiovasculares, atividade antibacteriana, antiviral e anti-inflamatória – ocorrem pela presença de substâncias antioxidantes [1-3] que agem inibindo as reações de oxidação promovidas pelos radicais livres, que, por sua vez, causam a degradação do DNA, peroxidação da membrana plasmática e a desnaturação de proteínas [4-5].

Entre os antioxidantes que estão presentes nos vegetais, os mais frequentemente encontrados e mais ativos são os compostos fenólicos, dentre os quais fazem parte os flavonoides – com mais de 5000 espécies diferenciadas e identificadas em plantas. Estes apresentam baixa massa molecular e são reconhecidos facilmente - em legumes, sementes, flores, caules, além das frutas - através dos pigmentos vermelho, azul, laranja e roxo [6-7].

O consumo de frutas frescas é um hábito muito comum nas regiões Norte e Nordeste do Brasil, além de vir crescendo no restante do mundo, devido aos vários fatores que levam a modificações dos hábitos alimentares, como maior cuidado com a saúde e maior atenção aos aspectos nutritivos dos alimentos, às campanhas publicitárias sobre os benefícios de consumo de frutas e hortaliças, à procura por ganho de tempo e por alimentos individualizados de fácil preparo [8]. Daí, dá-se o fato de estudar o maior número de frutas possíveis, ademais as regiões Norte e Nordeste são ricas em frutos. O presente trabalho se focará em estudar a capacidade antioxidante de duas frutas símbolos dessas regiões: buriti e a juçara.

A palmeira buriti (*Mauritia flexuosa*) é uma palmeira encontrada nos biomas Amazônia e Cerrado, que produz um fruto bastante consumido pela população nas mais diversas formas: doces, geleias, sorvete, compotas e vinhos. Este fruto possui uma cor que varia do amarelo ao marrom avermelhado escuro, esse pigmento característico é devido a presença dos compostos fenólicos, responsáveis pela ação antioxidante no organismo – entre eles, os carotenoides pró-vitamina A e β -caroteno são encontrados em elevadas concentrações [9-10].

O fruto da *Euterpe edulis* é também popularmente conhecido como juçara ou Açaí da Mata Atlântica e é um exemplo de fruto rico em flavonóides como as antocianinas. Este fruto apresenta coloração roxa intensa, devido, principalmente, à presença destes pigmentos antociânicos que apresentam uma potente atividade antioxidante [11]. A demanda pelo fruto aumentou com o passar dos anos, tanto no mercado nacional, quanto no mercado internacional - em países como Estados Unidos e Japão e no continente Europeu como um todo [12].

Visto que uma grande quantidade de frutas, legumes e outros vegetais apresentam compostos antioxidantes na sua composição, torna-se interessante para o público em geral conhecer os constituintes e a ação antioxidante de alimentos que são consumidos. Para isso se tem à disposição alguns métodos, um dos mais populares é a abordagem com o DPPH (2,2-difenil-1-picril-hidrazil). O DPPH é um radical comercial que pode ser reduzido por moléculas antioxidantes, alterando sua cor de púrpura para amarelo após a reação, causando uma diminuição na absorbância no comprimento de onda de 516 nm [7-8,13].

É recomendado que se use métodos complementares, que apresentem um princípio analítico diferente, para uma mesma análise, por isso o método eletroquímico também foi usado no estudo, além de que apresenta uma série de vantagens: velocidade, baixo custo, simplicidade, baixo consumo de reagentes (quando comparado à outros métodos) e a não dependência de compostos oxidáveis para medir a capacidade antioxidante da amostra, mas depender somente das propriedades eletroquímicas inerentes aos antioxidante da amostra.

1.2 Justificativa do Tema

O Maranhão, por fazer parte da Amazônia legal, possui uma rica flora, da qual muitas plantas são medicinais. O interesse em estudar a juçara (*Euterpe oleracea*) e o buriti (*Mauritia flexuosa*) reside no fato de serem frutos provenientes dessa região e cujos pigmentos naturais - as antocianinas e os carotenoides - fazerem parte dos compostos fenólicos responsáveis pela ação antioxidante no organismo.

Os antioxidantes naturais presentes na dieta aumentam a resistência aos danos provocados pela oxidação, ajudando assim na saúde humana. Além disso, grande parte dos estudos realizados relacionando capacidade antioxidante são com frutas de clima temperado como maçãs, uvas e cerejas [14-17], tendo, portanto, uma

necessidade de estudos sobre as propriedades biológicas e químicas de frutas tropicais, devido a sua crescente comercialização e consumo, tanto no mercado brasileiro como no mercado internacional.

2. OBJETIVOS

2.1. Objetivo Geral

Fazer uma análise in vitro da capacidade antioxidante dos frutos objetos de estudo – Juçara de Buriti – utilizando técnicas eletroquímicas e espectrofotométricas, fazendo uso de eletrodo de carbono vítreo (ECV).

2.2. Objetivos Específicos

- Determinar a capacidade antioxidante dos frutos Buriti e Juçara utilizando o método eletroquímico e espectrofotométrico.
- Avaliar a capacidade antioxidantes dos frutos usando as técnicas de DPPH e de Voltametria de Pulso Diferencial (VPD).
- Determinar o Índice Eletroquímico (IE) pelo método de Voltametria de Pulso Diferencial e a Concentração Eficiente (EC₅₀) pelo método de radical livre DPPH.

3. FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA

3.1. Atividade Antioxidante

Radicais livres são moléculas ou fragmentos de moléculas contendo um ou mais elétrons não pareados em orbitais atômicos moleculares, o que lhes conferem uma alta reatividade [19]. São formados de forma natural e espontânea pelos processos metabólicos do organismo, e acabam por nos causar efeitos não desejáveis, reagindo com partes das células, tais como: os lipídios das membranas celulares, nucleotídeos do DNA e nas ligações sulfidril em proteínas [20].

Essas reações que os radicais livres desencadeiam no organismo são uma das causas da aceleração do envelhecimento, doenças cardiovasculares, inflamações crônicas, câncer, doenças neurodegenerativas, como mal de Parkinson e mal de Alzheimer, além de diabetes [1-3,21-22].

Como os radicais livres são produzidos pelo próprio organismo foi necessário que o organismo também desenvolvesse uma defesa contra a ação oxidativa desses compostos: os antioxidantes. Antioxidante é qualquer substância que quando presente em baixas concentrações, comparadas às de um substrato oxidável, retarda ou previne significativamente a oxidação desse substrato [18]. A atividade de um antioxidante é determinada por: sua reatividade como agente doador de hidrogênio ou de elétrons; sua habilidade para que o radical livre antioxidante resultante estabilize e deslocalize o elétron desemparelhado; sua reatividade com outros antioxidantes e a possibilidade de quelatar íons metálicos, desde que tenha a presença de grupos hidroxila próximos do anel aromático [25].

Os agentes de defesa antioxidantes endógenos podem atuar de diversas maneiras, entre elas: reparadores de lesão ocorrida, por exemplo a glutathione-redutase e os reparadores de DNA, das proteínas e dos lipídios, por exemplo, as proteases e fosfolipase. Do modo exógeno os antioxidantes são obtidos através da dieta de fontes vegetais. A ação protetora das plantas se deve a presença, principalmente, dos compostos polifenólicos [19,23-24,37].

Daí a importância dos compostos antioxidantes para saúde humana, uma vez que a oxidação de biomoléculas, tais como, proteínas, lipídios e DNA, causados pelos radicais livres, é retardada ou até mesmo evitada.

Entre os antioxidantes que estão presentes nos vegetais, os mais frequentemente encontrados e mais ativos são os compostos fenólicos [7]. Dentro do

grupo dos fenólicos encontram-se os compostos fenóis simples, ácidos fenólicos (benzoico e derivados do ácido cinâmico), flavonoides, taninos, etc, os quais se encontram em pequena ou grande escala, sendo os flavonoides e derivados e os ácidos fenólicos de grande escala.

Os flavonóides são uma grande classe de compostos polifenólicos de baixa massa molecular, que possuem um esqueleto de quinze carbonos que consiste em dois anéis de benzeno, ligados através de um anel pirano heterocíclico (Figura 1) [26]. Ocorrem naturalmente nas flores e frutas das plantas, assim como nas suas folhas, caules e raízes, onde são importantes em muitas funções, inclusive atuando como antioxidantes [6-7]. Os flavonóides foram classificados em seis subgrupos: flavonas, flavonóis, flavanonas, flavan-3-óis, isoflavonas e antocianidinas. São pigmentos de plantas, responsáveis pelas cores vermelha, azul e púrpura de muitas frutas, vegetais e flores [6].

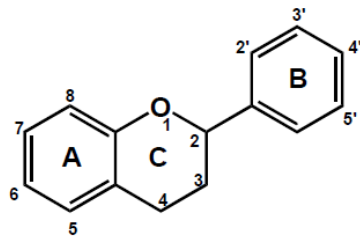


Figura 1 Estrutura geral dos flavonoides

3.2. Buriti e Juçara

O buriti (*Mauritia flexuosa*) é uma planta da família botânica Palmea ou Arecaceae, no Brasil tem procedências do Cerrado, Oeste da Caatinga, Pantanal e Amazônia, além de poder ser encontrado em outros países da América do Sul, tais como Bolívia, Peru, Equador, Colômbia e Venezuela [27]. É um fruto sazonal, em que sua frutificação em maior escala ocorre nos meses de dezembro a junho na maioria das regiões [29].

A palmeira tem de 15-20m de altura e é própria das margens lamacentas de rios e ilhas, sua fruta tem cerca de 75g de massa com uma casca avermelhada com duras camadas, a polpa é laranja, oleaginosa e saborosa [29]. O fruto é formado pelo epicarpo - constituído de escamas de cor castanho-avermelhadas – mesocarpo - uma massa espessa de cor laranja - e um endocarpo esponjoso que envolve a semente (Figura 2) [30].

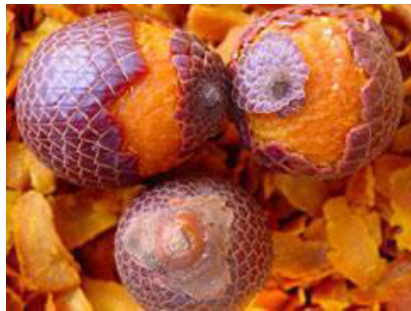


Figura 2 Foto do fruto buriti

A polpa do buriti é extensivamente consumida e comercializada em grande parte do Brasil, pois com ela é possível fazer o vinho, sorvetes, doces, refrescos etc. Em época de safra a polpa é facilmente encontrada em feiras locais, movimentando assim a economia, mesmo sendo despercebido nas estatísticas, por ser, em muitas das vezes, um comércio informal [29].

O buriti vem sendo caracterizado pela sua quantidade significativa de compostos fenólicos o que lhe confere uma capacidade antioxidante também significativa, como mostra GOMES, Sara MC et al, 2016 em seu trabalho no qual relacionam o índice eletroquímico e o EC_{50} do buriti e de outras frutas com a sua capacidade antioxidante. O buriti foi uma das frutas que apresentaram maior capacidade antioxidante. Este estudo foi feito com o buriti em sua forma liofilizada. Num estudo in natura espera-se um resultado ainda melhor.

BATAGLION, Giovana A. et al conseguiram determinar 13 compostos fenólicos em quantidades consideráveis no extrato da polpa. Além de apresentar uma quantidade relevante de carotenoides totais [9].

Com base nesses fatos o buriti pode ser um interessante aliado para a saúde humana, trazendo vários benefícios fisiológicos, uma vez que possui várias espécies químicas com capacidade de prevenção de várias doenças crônicas.

Ocorrência da palmeira da juçara (*Euterpe edulis*) está ligada ao bioma Mata Atlântica que ocorre desde Pernambuco até o litoral norte do Rio Grande do Sul, passando pelos vales dos rios Paraná e Iguaçu, Argentina e até sudeste do Paraguai. Uma variante muito próxima da Juçara (figura 3) é o açaí (*Euterpe oleracea*) que é típica da região amazônica, especialmente dos Estados do Maranhão, Pará e Amapá. O seu ponto de origem é principalmente o estuário do Rio Amazonas e todos os

componentes da palmeira são aproveitados pelos habitantes, com destaque para os frutos [32,12].



Figura 3 Foto do fruto juçara

O fruto da *Euterpe edulis* é também popularmente conhecido como açáí da palmeira, juçara ou Açáí da Mata Atlântica e é um exemplo de fruto rico em flavonóides como as antocianinas. Estes frutos apresentam coloração roxa intensa, devido, principalmente, à presença destes pigmentos antociânicos que apresentam uma potente atividade antioxidante [11].

A demanda pelo fruto aumentou com o passar dos anos por parte de outros Estados brasileiros e por países estrangeiros como: Estados Unidos, Europa e Japão. De modo que o mercado de juçara e açáí cresceu tanto interna, quanto externamente. Aumento que se expressa desde 1990 e que se deve além do sabor, aos benefícios energéticos e antioxidantes do fruto. Trata-se de um alimento altamente energético e nutritivo que proporciona benefícios à saúde devido à sua elevada atividade antioxidante natural, em especial pela presença das antocianinas [11-12,33].

GOMES, Sara MC et al, 2016 também estudou a capacidade antioxidante da juçara liofilizada, e viu-se – como no buriti – uma atividade antioxidante notável, tornando-se assim interessante estudar tais características in natura, assim como o buriti.

3.3. Métodos de Determinação da Atividade Antioxidante

Uma vez que se sabe da forte correlação entre a não ocorrência de certos problemas de saúde e o consumo de substâncias antioxidantes, é de interesse não só dos especialistas da saúde e dos profissionais da área de tecnologia e engenharia de alimentos, mas, principalmente, do público em geral saber quais alimentos possui maior atividade antioxidante. Para isso, existem alguns métodos, entre os mais utilizados estão os que usam a espectrofotometria, como o DPPH (2,2-difenil-1-picrilidrazil) e ABTS (2,2 azino-bis-(3-etil-benzotiazolina-6-ácido sulfônico)) [13,34].

Entre os métodos químicos mais aplicados para determinar a capacidade antioxidante de um composto, está o método de DPP, por ser considerado rápido, prático e estável [35].

O DPPH (2,2-difenil-1-picrilidrazil) é um radical de nitrogênio orgânico, estável, de cor violeta e possui absorção máxima em 516 nm. Este método consiste em determinar a captura deste radical pelos compostos antioxidantes.

Após a adição da amostra contendo o composto ou compostos antioxidantes, observa-se uma diminuição da absorbância proporcional à concentração e a capacidade antioxidante da amostra. Na presença de um doador de hidrogênio ou elétron, a absorção diminui e a solução com o radical perde a cor, tornando-se amarelada de acordo com o número de elétrons capturados, ou seja, quando o elétron desemparelhado do átomo de nitrogênio no DPPH recebe um átomo de hidrogênio proveniente de compostos antioxidantes, ocorre a mudança de cor (figura 4). É um método útil, pois o radical é bastante estável, além de estar disponível comercialmente, facilitando seu uso [13].

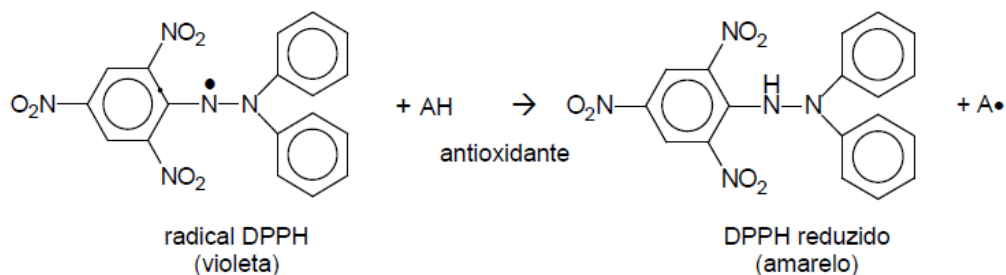


Figura 4 Estrutura química do DPPH e reação com antioxidante [35]

Entre as diferentes maneiras de expressar os resultados, alguns autores mencionam que o parâmetro mais adequado para tal é o EC_{50} , definido como a quantidade de antioxidante requerida para um decréscimo de 50% na concentração inicial do radical DPPH. Mesmo que o cálculo seja mais elaborado, este parâmetro independe da concentração da amostra e é amplamente utilizado para comparar amostras com diferentes propriedades antioxidantes [36].

Outro método bastante eficiente em determinar a capacidade antioxidante total é o eletroquímico, uma vez que os antioxidantes são agentes redutores e em soluções tendem a serem oxidados facilmente em eletrodos inertes, pode-se traçar uma relação entre seu comportamento eletroquímico e sua capacidade antioxidante: quanto mais baixo seu potencial de oxidação, maior sua capacidade antioxidante [37].

Como as oxidações biológicas são basicamente reações redox, logo o monitoramento das transferências de cargas, além dos dados cinéticos, pode ser feito pelos métodos eletroquímicos [38]. Foi em 1997 que métodos eletroquímicos começaram a ser utilizados para avaliar a capacidade de redução de alguns antioxidantes de baixo peso molecular com o trabalho de Chevion, Berry, Kitrossky e Kohen [39].

As técnicas eletroquímicas estão surgindo como alternativas, dadas algumas das desvantagens enfrentadas pelos métodos espectrofotométricos, como o uso de reagente dispendioso, que não é ecológico, tempo de reação indefinido, tempo de pré-tratamento de amostra longo e baixa precisão e sensibilidade em comparação com os métodos eletroquímicos [40].

Usa-se várias técnicas eletroquímicas para determinar a capacidade antioxidante total, dentre as quais se destacam a voltametria cíclica, voltametria de pulso diferencial. A voltametria cíclica (VC) é a técnica mais utilizada para obter informações qualitativas sobre as propriedades e características dos processos eletroquímicos.

A voltametria de pulso diferencial (VPD) é uma técnica em que pulsos de magnitude fixa são sobrepostos em uma rampa de potencial linear, onde a corrente de resposta é amostrada duas vezes, logo antes da aplicação do pulso e novamente no final da vida do pulso. A primeira corrente é subtraída da segunda e a diferença atual é traçada em relação ao potencial aplicado. A diferença entre estas duas

correntes no potencial aplicado passam pelo máximo, por isso tem uma forma de pico [42].

Podemos relacionar a capacidade antioxidante dos compostos fenólicos com o pico de potencial de oxidação (E_p) determinado pelo método VPD. Quanto menos positivo o E_p , maior a capacidade antioxidante [43]. Franck, et al., 2013 encontrou os picos de potenciais para propil galato, ácido gálico, ácido cafeico, ácido ferúlico em 0,26, 0,29, 0,30 e 0,48 V vs. Calomelano, respectivamente [43].

Também pode-se relacionar a capacidade antioxidante com o Índice Eletroquímico, como GOMES, Sara MC et al, 2016 o fizeram. Quanto maior o índice eletroquímico maior a capacidade antioxidante. Sendo que o índice eletroquímico é definido como a concentração fenólica total, podendo ser obtido usando técnicas eletroquímicas de VPD levando-se em conta o potencial de pico e a corrente de pico (I_p) [6].

$$IE = \frac{I_{p1}}{E_{p1}} + \frac{I_{p2}}{E_{p2}} + \dots + \frac{I_{pn}}{E_{pn}} \quad (\text{eq 1})$$

GOMES, Sara MC et al, 2016 concluíram que a detecção eletroquímica, utilizando o VPD, permitiu a determinação de concentrações muito menores do analito e sem interferências comparando com o método espectrofotométrico. Estes resultados mostraram a excelente sensibilidade da detecção eletroquímica, e sua adequação para a detecção de baixos níveis de compostos fenólicos eletroativos em extratos de frutas frescas e secas [6].

4. PARTE EXPERIMENTAL

4.1. Reagentes, soluções e amostras

Todos os reagentes utilizados foram de grau analítico sem purificação adicional. Todas as soluções foram preparadas usando água nanopura Milli-Q Academic da Millipore e as experiências foram realizadas à temperatura ambiente, 25 ± 1 ° C. Na tabela 1 estão apresentados todos os reagentes utilizados nas análises e suas respectivas procedências:

Tabela 1 Lista de reagentes utilizados e suas respectivas procedências

Reagentes	Procedência
Ácido clorídrico	Isofar
Peróxido de Hidrogênio	
Ácido Nítrico	
Cloreto de potássio	Merk S.A
Permanganato de potássio	
Metanol	
Cloreto de prata	Sigma Aldrich
Catequina	
DPPH	
Hidróxido de potássio	Dinâmica

4.2. Limpeza do material

Antes das análises todo o material foi limpo, usando-se solução permanganato de potássio baseificada com hidróxido de potássio; Em seguida, o material foi submetido a solução de água oxigenada 5% acidificada com ácido nítrico. Depois foram lavados com água destilada e/ou purificada por um sistema Milli-Q Academic da Millipore.

4.3. Instrumentação

4.3.1. Medidas eletroquímicas

As medidas eletroquímicas foram realizadas com o potenciostato/galvanostato Autolab® (Metrohm) acoplado a um computador com o software GPES para controle de potencial, aquisição e tratamentos de dados.

Foi utilizado uma célula eletroquímica de três compartimentos construída em vidro Pyrex® e tampa de Teflon, conforme ilustrado na figura 5. Foram usados um eletrodo de trabalho de carbono vítreo (diâmetro de 4 milímetros), um eletrodo de referência de Ag/AgCl (3M KCl) e um contra eletrodo ou eletrodo auxiliar de platina.

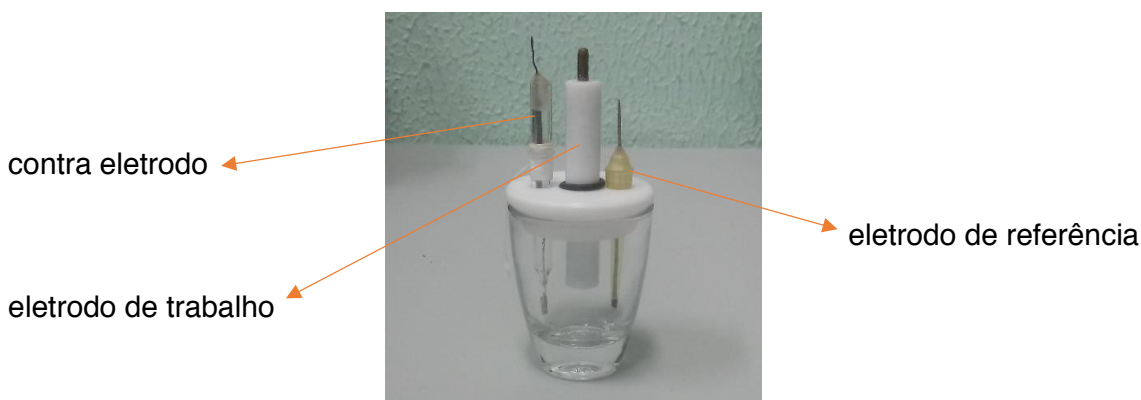


Figura 5 Célula para medidas eletroquímicas

Para garantir resultados reprodutíveis, o eletrodo de carbono vítreo foi submetido a um procedimento de limpeza antes de cada ensaio eletroquímico, consistindo em: (1) polimento com spray de diamante (tamanho de partícula 1 μM , Kement); (2) enxaguar abundantemente com água Milli-Q; e (3) colocar no eletrólito de suporte e realizar a VPD até que um voltamograma de linha de base de estado estacionário fosse obtido. Este procedimento garantiu resultados experimentais muito reprodutíveis.

Para construção do eletrodo de referência, tomou-se um fio de prata previamente limpo, este foi lixado com a lixa d'água e lavado com água destilada. Em seguida, realizou-se a eletrodeposição de cloreto de prata na superfície do fio através da aplicação de potencial constante durante alguns segundos [44]. Introduziu-se o fio recoberto com filme em uma pipeta de Pasteur adaptada para o tamanho do eletrodo,

com a extremidade vedada com separador de baterias para o contato elétrico e contendo uma solução de KCl 3,0 mol.L⁻¹. A extremidade superior foi vedada com uma pequena rolha de borracha e Parafilm M® deixando-se aproximadamente 1,0 cm do fio de prata exposto [44].

Para os ajustes de pH das soluções tampão foi usado um peagômetro de bancada Kasvi REF: K39-2014.

As condições de trabalho para a voltametria diferencial de pulso foram: amplitude de pulso de 50 mV, largura de pulso: 100ms, salto de potencial: 2mV e velocidade de varredura: 5 mV.S⁻¹ com faixa de potencial: 0 a 1,2 V.

4.3.2 Medidas espectrofotométricas

As medições das absorbâncias foram registradas em um Espectrofotômetro Cary 50 UV – Vis. As condições experimentais para os espectros de absorção foram: velocidade de varredura 400 nm / min, intervalo de amostragem 1,50 nm e comprimento do caminho 1 cm. Todos os espectros de UV-vis foram medidos para 516 nm.

4.3.3 Preparação da amostra

As polpas foram adquiridas no mercado local. Para cada ensaio foram dissolvidos uma certa quantidade em gramas, no caso da juçara em mL, na solução de extração, metanol/HCl (conc.), numa proporção de 99:1, respectivamente; logo em seguida é colocada no aparelho de ultrassom por 20 minutos, coberto por papel alumínio, para proteção conta a luz. Nas análises eletroquímicas usou-se um eletrólito de suporte – solução KCl-HCl - com pH de 2,2 para maior estabilidade dos flavonoides e maior concentração dos cátions flavilium [45].

A solução stock de DPPH foi preparada diariamente e utilizada numa concentração de 80 µM. Resumidamente, para 2,5 mL de solução metanólica de DPPH, adicionou-se uma alíquota de 0,5 mL, para controle em branco, de metanol para atingir um volume final de 3,0 mL na cubeta. Este procedimento foi repetido para todas as amostras analíticas, com 0,5; 0,3 e 0,2 ml de solução das amostras de frutas, complementando o volume com metanol, a fim de se obter um volume final de 3ml. A solução reacional foi medida para 400 < λ < 800 em diferentes tempos de incubação (de 0 a 30 minutos). A atividade antioxidante total foi expressa como “concentração

eficiente” ou EC50, representando a quantidade de extrato para produzir 50% de descoloração do DPPH em relação à amostra de metanol [6,26].

5. RESULTADO E DISCUSSÃO

5.1 Estudo eletroquímico das polpas das frutas

O comportamento eletroquímico de todos os extratos foi investigado por voltametria de pulso diferencial, utilizando como eletrólito de suporte uma solução KCl – HCl (conc.) num pH = 2,2. Esse valor de pH foi escolhido para garantir a maior estabilidade dos flavonoides e maior concentração do cátion flavilium [45].

Os resultados eletroquímicos das frutas serão discutidos e comparados com o do padrão da catequina (10 μ M), uma vez que apresentou potencial de pico menos positivo e maior corrente de pico em comparação com outros padrões de flavonoides em diversos estudos, e, por isso, é um padrão de flavonoide dos mais usados em análises de polifenóis [6,26], Figura 6.

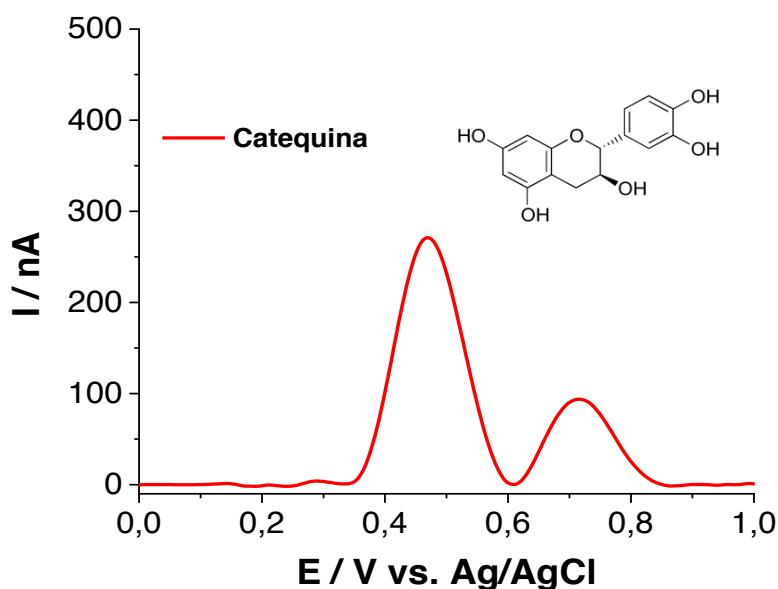


Figura 6 Voltamograma de pulso diferencial da catequina 10 μ m em ECV, tendo como eletrólito de suporte tampão KCl - HCL em pH 2,2

Segundo ISSAAD, Fatima Zohra et al, dependendo da estrutura química, os polifenóis, geralmente, se oxidam de uma a três etapas, correspondendo às frações eletroativas: catecol, fenol e resorcinol. Em meio ácido, a oxidação do grupo catecol ocorre com baixo potencial de oxidação (aproximadamente +0,5 V), sendo uma característica de uma forte atividade antioxidante. Em um potencial mais positivo ($E_p \cong +0,9$ V) ocorre a oxidação do fenol e/ou resorcinol e dos seus subprodutos da oxidação.

A estrutura da catequina apresenta duas partes eletroativas, um catecol e outra resorcinol. A figura 6 mostra um voltamograma de pulso diferencial da catequina - 10 μM em eletrólito de suporte solução tampão KCl – HCL pH = 2,2 - com dois picos de oxidação. O primeiro pico de oxidação em, aproximadamente, + 0,5 V e o segundo em, aproximadamente, + 0,9 V, correspondendo a oxidação do catecol e do resorcinol, respectivamente [48].

O voltamograma de pulso diferencial do extrato da fruta buriti - para a concentração de 11,47 $\text{mg}\cdot\text{ml}^{-1}$ - mostra 3 picos de oxidação, no pico de menor potencial o $E = 0,45 \text{ V}$; o segundo pico de $E = 0,61 \text{ V}$ e no pico de maior potencial o $E = 0,70 \text{ V}$, sendo que as correntes de pico aproximadas correspondentes foram 63, 129 e 146 nA. O primeiro pico apresenta um poder antioxidante maior em relação aos demais, pois seu potencial é menos positivo (figura 7). Observa-se no voltamograma que os potenciais de pico são próximos aos da catequina, com a primeira reação anódica ocorrendo próximo de 0,5 V, provavelmente como resultado da oxidação de diferentes espécies contendo catecol, seguido dos picos decorrentes, correspondendo as oxidações das frações contendo fenol e/ou resorcinol e seus subprodutos de oxidação, na faixa de 0,6 V.

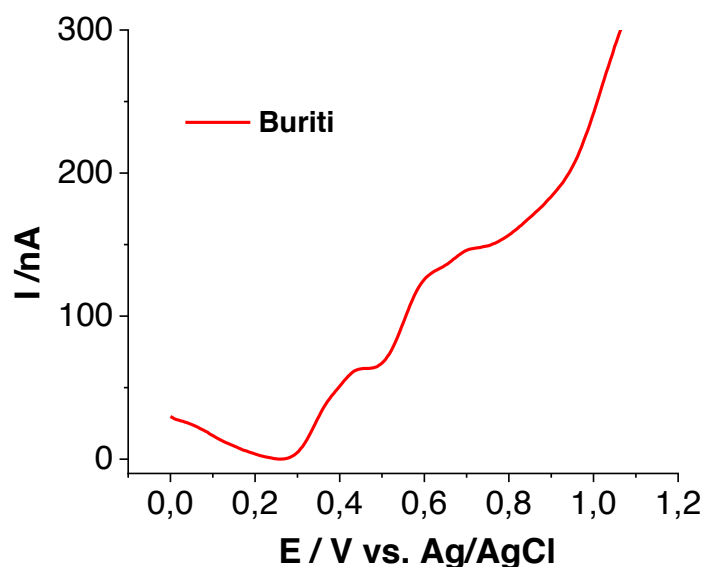


Figura 7 Voltamograma de pulso diferencial do extrato da fruta buriti em ECV, tendo como eletrólito de suporte tampão KCl - HCL em pH 2,2

O voltamograma de pulso diferencial para o extrato da juçara – para concentração de 25 v/v - mostra um perfil voltamétrico semelhante ao extrato do fruto

buriti, com dois picos de oxidação, o primeiro em 0,45 V e o segundo (pico) em torno de 0,65 V, sendo que as correntes de pico correspondentes foram, aproximadamente, 138 e 219 nA (figura 8). Provavelmente, esses picos representando a oxidação das espécies contendo o grupo catecol e fenol/resorcinol, respectivamente, presentes na amostra, por também serem bastantes próximos aos picos do voltamograma da catequina.

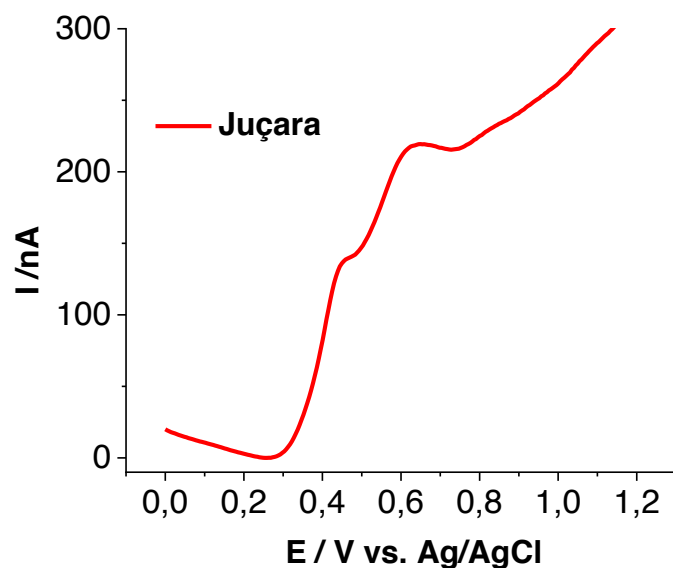


Figura 8 Voltamograma de pulso diferencial do extrato da fruta juçara em ECV, tendo como eletrólito de suporte tampão KCl - HCL em pH 2,2

Como os antioxidantes são compostos eletroativos, pode-se analisá-los por meio de métodos eletroquímicos. Bons doadores de elétrons podem se oxidar com um potencial menos positivo. Seguindo esse princípio, o conceito de índice eletroquímico (IE) foi proposto [46], tendo em conta os parâmetros principais da voltametria – potencial de pico e corrente de pico. Assim, quanto menos positivo o potencial maior a capacidade antioxidante; e quanto maior a corrente de pico, maior a quantidade de espécies eletroativas [47]. Logo o IE é definido como a concentração total de compostos fenólicos e pode ser obtido usando a equação 1:

$$IE = \frac{I_{p1}}{E_{p1}} + \frac{I_{p2}}{E_{p2}} + \dots + \frac{I_{pn}}{E_{pn}}$$

Onde I_p e E_p correspondem aos valores de corrente e potencial para cada pico anódico importante observado nos voltamogramas de VPD.

O IE obtido para os extratos das frutas e da catequina, a 10 μm , mostra que a juçara tem maior capacidade antioxidante total (0,64 nA/mV) que o buriti (0,56 nA/mV), já que apresenta um maior IE, sendo que a catequina apresentou um IE ainda maior de 0,71 nA/mV.

5.2 Caracterização espectrofotométrica

A capacidade antioxidante total dos extratos das frutas foi determinada usando os ensaios de eliminação de radicais livres DPPH em diferentes tempos de encubação - de 0 a 30 minutos - bem como diferentes concentrações de extratos.

Os resultados obtidos da análise espectrofotométrica estão expressos nas tabelas abaixo, esses resultados possibilitaram os cálculos dos parâmetros para a avaliação da capacidade antioxidante, além de possibilitar a visualização do comportamento da reação (Figura 9).

Tabela 2 Medidas das absorbâncias em 516nm ao longo do tempo para o padrão de catequina

Amostras	Absorbâncias em 516 nm ao longo do tempo					
	0 min	5 min	10 min	15 min	20 min	30 min
2,5 DPPH + 0,5 MeOH	0,443	0,436	0,433	0,430	-	-
2,5 DPPH + 0,5 Padrão	0,499	0,489	0,488	0,487	0,485	0,483
2,5 DPPH + 0,3 Padrão	0,527	0,520	0,518	0,518	0,519	0,519
2,5 DPPH + 0,2 Padrão	0,538	0,529	0,527	0,525	0,524	0,523

Tabela 3 Medidas das absorvâncias em 516nm ao longo do tempo para extrato do fruto buriti

Amostras	Absorvâncias em 516 nm ao longo do tempo					
	0 min	5 min	10 min	15 min	20 min	30 min
2,5 DPPH + 0,5 MeOH	0,646	0,626	0,606	–	–	–
2,5 DPPH + 0,5 Extrato	0,572	0,326	0,240	0,195	0,169	0,137
2,5 DPPH + 0,3 Extrato	0,527	0,362	0,293	0,250	0,220	0,186
2,5 DPPH + 0,2 Extrato	0,521	0,391	0,330	0,294	0,268	0,224

Tabela 4 Medidas das absorvâncias em 516nm ao longo do tempo para o extrato da fruta juçara

Amostras	Absorvâncias em 516 nm ao longo do tempo					
	0 min	5 min	10 min	15 min	20 min	30 min
2,5 DPPH + 0,5 MeOH	0,504	0,504	0,504	–	–	–
2,5 DPPH + 0,5 Extrato	0,587	0,351	0,314	0,3	0,294	0,293
2,5 DPPH + 0,3 Extrato	0,468	0,263	0,207	0,181	0,167	0,153
2,5 DPPH + 0,2 Extrato	0,411	0,299	0,238	0,192	0,169	0,136

Todos os extratos, incluindo o padrão da catequina, apresentam uma reação bifásica: uma rápida diminuição da absorvância nos primeiros minutos, seguida de uma fase lenta, envolvendo produtos de degradação, até alcançar o equilíbrio – como mostram as figuras 9A e 9B. Apresentando um resultado semelhante a outro estudo similar feito por nosso grupo de pesquisa [6].

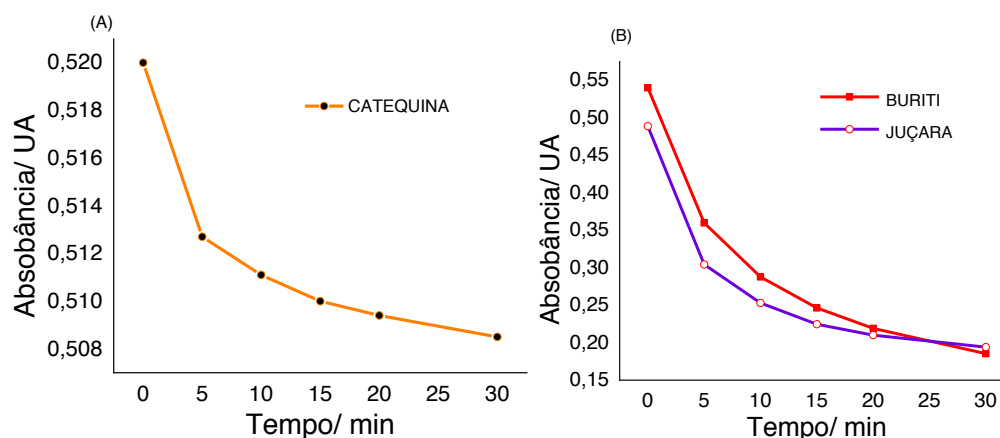


Figura 9 Absorbância de extratos de frutas e da catequina com tempo de incubação, na mistura de reação de 80 μ M de DPPH em metanol: (A) catequina e (B) extratos das frutas

A quantidade de antioxidante necessária para diminuir a absorbância de DPPH em 50% da absorbância inicial – concentração eficiente ou EC_{50} – para avaliar a capacidade antioxidante total dos diferentes extratos de frutas, foi determinada. O EC_{50} está inversamente relacionado à capacidade antioxidante de um composto, ou seja, quanto menor o EC_{50} , maior a atividade antioxidante de um composto.

O EC_{50} foi calculado com a seguinte fórmula:

$$EC_{50} = \frac{(A_0 \times 0,5) \times C_m}{A_{mm}} \quad (\text{eq 2})$$

Sendo A_0 a absorbância no tempo zero e na concentração zero, C_m a média das concentrações das amostras das frutas e A_{mm} a média das médias das absorbâncias de cada concentração das amostras [6,13,26]. A A_{mm} é calculada, primeiramente, calculando a média das absorbâncias de cada concentração em relação ao tempo, em seguida calculando novamente a média das médias encontradas de cada concentração.

A partir dos resultados apresentados nas tabelas 2, 3 e 4, calculou-se os valores do EC_{50} para as amostras dos frutos e para o padrão de catequina, obtendo-se os valores de 0,016%; 0,80 $\text{mg} \cdot \text{ml}^{-1}$ e $1,0 \times 10^{-4} \text{ mg} \cdot \text{ml}^{-1}$ para a juçara, buriti e o

padrão da catequina, respectivamente. Com isso observa-se que a juçara tem maior poder antioxidante que o buriti, uma vez que o valor do EC_{50} é inversamente proporcional à atividade antioxidante.

Ademais, foi obtida uma boa correlação com os resultados obtidos dos voltamogramas da VPD, uma vez que o EC_{50} é inversamente proporcional ao IE. Vê-se que a fruta com menor EC_{50} possui maior IE (tabela 5) mostrando a precisão de ambos os métodos para a avaliação da capacidade antioxidante total, demonstrando assim que tanto o EC_{50} quanto o IE são boas alternativas para avaliação da capacidade antioxidante de frutas frescas.

Tabela 5 EC_{50} e IE obtidos para os extratos das frutas e padrão de catequina

Compostos (concentração)	EC_{50} (mg/ml)	IE (nA/mV)
Catequina (10 μM)	1,0x10 ⁻⁴	0,71
Buriti (11,47 mg/ml)	0,802	0,56
Juçara (0,25 v/v)	0,016%	0,64

6. CONCLUSÃO

Avaliou-se a capacidade antioxidante total – utilizando um ECV – com os voltamogramas da VPD dos extratos das frutas buriti e juçara, que são típicas do estado do Maranhão, além do extrato do padrão da catequina. Em todos os casos, a voltametria PD mostrou que o mecanismo de oxidação ocorreu em duas ou três etapas, correspondendo aos grupos fenólicos eletroativos. Provavelmente, a oxidação nos potenciais mais baixos se deve a oxidação do grupo catecol e a oxidação em potenciais mais altos a frações dos grupos fenol e/ou resorcinol.

O índice eletroquímico (IE), obtido a partir dos voltamogramas da VPD, mostrou que das frutas estudadas a juçara apresenta maior poder antioxidante em comparação com a fruta buriti.

Foi avaliada também a concentração eficiente (EC_{50}) para o sequestrador de radicais livres dos extratos utilizando o ensaio do radical DPPH. O menor EC_{50} , que significa maior eliminação de radicais, e, portanto, maior poder antioxidante, das frutas estudadas foi da juçara em relação ao buriti.

Portanto as abordagens eletroquímicas e espectrofotométricas concordaram e provaram ser técnicas analíticas rápidas, eficientes e sensíveis para a avaliação da capacidade antioxidante total em amostras in natura.

REFERÊNCIAS

1. YAO, Liu H. et al. Flavonoids in food and their health benefits. **Plant foods for human nutrition**, v. 59, n. 3, p. 113-122, 2004.
2. DUTHIE, Garry G .; DUTHIE, Susan J .; KYLE, Janet AM. Polifenóis vegetais no câncer e doenças cardíacas: implicações como antioxidantes nutricionais. **Revisões de pesquisas sobre nutrição**, v. 13, n. 1, pág. 79-106, 2000.
3. VAN'T VEER, Pieter et al. Fruits and vegetables in the prevention of cancer and cardiovascular disease. **Public health nutrition**, v. 3, n. 1, p. 103-107, 2000.
4. DA SILVA, Edson L. et al. Quercetin metabolites inhibit copper ion-induced lipid peroxidation in rat plasma. **FEBS letters**, v. 430, n. 3, p. 405-408, 1998.
5. DULEBOHN, Rachel V. et al. Effects of blueberry (*Vaccinium ashei*) on DNA damage, lipid peroxidation, and phase II enzyme activities in rats. **Journal of agricultural and food chemistry**, v. 56, n. 24, p. 11700-11706, 2008.
6. GOMES, Sara MC et al. Flavonoids electrochemical detection in fruit extracts and total antioxidant capacity evaluation. **Talanta**, v. 154, p. 284-291, 2016.
7. Oroian, M., & Escriche, I. Antioxidants: Characterization, natural sources, extraction and analysis. **Food Research International**, v. 74, p. 10-36, 2015.
8. MARIA DO SOCORRO, M. Rufino et al. Bioactive compounds and antioxidant capacities of 18 non-traditional tropical fruits from Brazil. **Food chemistry**, v. 121, n. 4, p. 996-1002, 2010.
9. CÂNDIDO, T. L. N.; SILVA, M. R.; AGOSTINI-COSTA, T. S. Bioactive compounds and antioxidant capacity of buriti (*Mauritia flexuosa* Lf) from the Cerrado and Amazon biomes. **Food Chemistry**, v. 177, p. 313-319, 2015.

10. DE ROSSO, Veridiana V.; MERCADANTE, Adriana Z. Identification and quantification of carotenoids, by HPLC-PDA-MS/MS, from Amazonian fruits. **Journal of agricultural and food chemistry**, v. 55, n. 13, p. 5062-5072, 2007.
11. DE MOURA ROCHA, Suellem Maria Bezerra. Benefícios funcionais do açaí na prevenção de doenças cardiovasculares. **Journal of Amazon Health Science**, v. 1, n. 1, p. 1-10, 2015.
12. LIMA, C. P. et al. Polyphenolic content and antioxidant capacity of fruits of Juçara (*Euterpe edulis* Martius) palm tree. **Revista Brasileira de Plantas Mediciniais**, v. 14, n. 2, p. 321-326, 2012.
13. BRAND-WILLIAMS, Wendy; CUVELIER, Marie-Elisabeth; BERSET, C. L. W. T. Use of a free radical method to evaluate antioxidant activity. **LWT-Food science and Technology**, v. 28, n. 1, p. 25-30, 1995.
14. EBERHARDT, Marian V.; LEE, Chang Yong; LIU, Rui Hai. Antioxidant activity of fresh apples. **Nature**, v. 405, n. 6789, p. 903-904, 2000.
15. ZHENG, Wej; WANG, Shioh Y. Oxygen radical absorbing capacity of phenolics in blueberries, cranberries, chokeberries, and lingonberries. **Journal of Agricultural and food Chemistry**, v. 51, n. 2, p. 502-509, 2003.
16. CHUN, Ock Kyoung et al. Daily consumption of phenolics and total antioxidant capacity from fruit and vegetables in the American diet. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, v. 85, n. 10, p. 1715-1724, 2005.
17. LIYANA-PATHIRANA, C. M.; SHAHIDI, F.; ALASALVAR, C. Antioxidant activity of cherry laurel fruit (*Laurocerasus officinalis* Roem.) and its concentrated juice. **Food chemistry**, v. 99, n. 1, p. 121-128, 2006.

18. SIES, Helmut; STAHL, Wilhelm. Vitamins E and C, beta-carotene, and other carotenoids as antioxidants. **The American journal of clinical nutrition**, v. 62, n. 6, p. 1315S-1321S, 1995.
19. HAIDA, Kimiyo Shimomura et al. Compostos Fenólicos Totais E Atividade Antioxidante De Duas Variedades De Goiaba E Arruda Phenolic Compounds And Antioxidant Activity Of Two Varieties Of Guava And Rue. **Revista de Atenção à Saúde**, v. 9, n. 28, 2011.
20. VALKO, Marian et al. Free radicals and antioxidants in normal physiological functions and human disease. **The international journal of biochemistry & cell biology**, v. 39, n. 1, p. 44-84, 2007.
21. GIOTI, Eleni M. et al. Antioxidant activity and bioactive components of the aerial parts of *Hypericum perforatum* L. from Epirus, Greece. **Food Chemistry**, v. 117, n. 3, p. 398-404, 2009.
22. JANG, Hung-Der et al. Principal phenolic phytochemicals and antioxidant activities of three Chinese medicinal plants. **Food chemistry**, v. 103, n. 3, p. 749-756, 2007.
23. VINSON, Joe A. et al. Phenol antioxidant quantity and quality in foods: fruits. **Journal of agricultural and food chemistry**, v. 49, n. 11, p. 5315-5321, 2001.
24. MAGALHÃES, Luís M. et al. Automatic method for the determination of Folin-Ciocalteu reducing capacity in food products. **Journal of agricultural and food chemistry**, v. 54, n. 15, p. 5241-5246, 2006.
25. RICE-EVANS, Catherine; MILLER, Nicholas; PAGANGA, George. Antioxidant properties of phenolic compounds. **Trends in plant science**, v. 2, n. 4, p. 152-159, 1997.

26. ISSAAD, Fatima Zohra et al. Flavonoids in Selected Mediterranean Fruits: Extraction, Electrochemical Detection and Total Antioxidant Capacity Evaluation. **Electroanalysis**, v. 29, n. 2, p. 358-366, 2017.
27. SAMPAIO, Maurício Bonesso; CARRAZZA, Luis Roberto. Manual tecnológico de aproveitamento integral do fruto e da folha do Buriti. 2012.
28. CARNEIRO, Theídes Batista et al. Frutos e polpa desidratada Buriti (*Mauritia flexuosa* L.): aspectos físicos, químicos e tecnológicos. **Revista Verde de Agroecologia e Desenvolvimento Sustentável**, v. 6, n. 2, p. 105-111, 2011.
29. DARNET, Sylvain Henri et al. Nutritional composition, fatty acid and tocopherol contents of buriti (*Mauritia flexuosa*) and patawa (*Oenocarpus bataua*) fruit pulp from the Amazon region. **Food Science and Technology**, v. 31, n. 2, p. 488-491, 2011.
30. PIOVESANA, Alessandra; BUENO, Micheli Maria; KLAJN, Vera Maria. Elaboração e aceitabilidade de biscoitos enriquecidos com aveia e farinha de bagaço de uva. **Brazilian Journal of Food Technology**, v. 16, n. 1, p. 68-72, 2013.
31. BATAGLION, Giovana A. et al. Simultaneous quantification of phenolic compounds in buriti fruit (*Mauritia flexuosa* Lf) by ultra-high performance liquid chromatography coupled to tandem mass spectrometry. **Food Research International**, v. 66, p. 396-400, 2014.
32. SACRAMENTO, José Maria Cardoso Sacramento Zeca; KALSING, Janaína; SCHULTZ, Glauco. Açaí no Norte e juçara no Sul: A necessidade do estudo de cadeias de produtos. **Cadernos de Agroecologia**, v. 10, n. 3, 2016.
33. DE OLIVEIRA RIBEIRO, Leilson; MENDES, Marisa Fernandes; PEREIRA, Cristiane de Souza Siqueira. Avaliação da composição centesimal, mineral e teor de antocianinas da polpa de juçará (*Euterpe edulis* Martius). **Revista Eletrônica TECCEN**, v. 4, n. 3, p. 05-16, 2011.

34. LEONG, L. P.; SHUI, G. An investigation of antioxidant capacity of fruits in Singapore markets. **Food chemistry**, v. 76, n. 1, p. 69-75, 2002.
35. BALOGH, Emóke; HEGEDŰS, Attila; STEFANOVITS-BÁNYAI, Éva. Application of and correlation among antioxidant and antiradical assays for characterizing antioxidant capacity of berries. **Scientia horticulturae**, v. 125, n. 3, p. 332-336, 2010.
36. LOCATELLI, M.; GINDRO, R.; TRAVAGLIA, F.; COISSON, J.D.; RINALDI, M.; ARLORIO, M. Study of the DPPH•-scavenging activity: development of a free software for the correct interpretation of data. *Food Chemistry, Barking*, v. 114, p. 889-897, 2009.
37. BARROS, Lillian et al. Antioxidant activity of Agaricus sp. mushrooms by chemical, biochemical and electrochemical assays. **Food chemistry**, v. 111, n. 1, p. 61-66, 2008.
38. GANDRA, Paulo Guimarães et al. Determinação eletroquímica da capacidade antioxidante para avaliação do exercício físico. **Química Nova**, v. 27, n. 6, p. 980-985, 2004.
39. CHEVION, Shlomit et al. Evaluation of plasma low molecular weight antioxidant capacity by cyclic voltammetry. **Free Radical Biology and Medicine**, v. 22, n. 3, p. 411-421, 1997.
40. HOYOS-ARBELÁEZ, Jorge; VÁZQUEZ, Mario; CONTRERAS-CALDERÓN, José. Electrochemical methods as a tool for determining the antioxidant capacity of food and beverages: A review. **Food chemistry**, v. 221, p. 1371-1381, 2017.
41. ALVES, Clayton Q. et al. Métodos para determinação de atividade antioxidante in vitro em substratos orgânicos. **Química Nova**, v. 33, n. 10, p. 2202-2210, 2010.
42. PACHECO, Wagner Felipe et al. Voltametrias: Uma breve revisão sobre os conceitos. **Revista Virtual de Química**, v. 5, n. 4, p. 516-537, 2013.]

43. FRANCK, Thierry et al. Differentiation between stoichiometric and anticatalytic antioxidant properties of benzoic acid analogues: a structure/redox potential relationship study. **Chemico-biological interactions**, v. 206, n. 2, p. 194-203, 2013.
44. DANTAS, Luiza Maria Ferreira. **Uso de eletrodos de cobre e eletrodos modificados como sensores eletroquímicos**. Tese de Doutorado. Universidade de São Paulo.
45. NOVAK, Ivana et al. Ultrasound extracted flavonoids from four varieties of Portuguese red grape skins determined by reverse-phase high-performance liquid chromatography with electrochemical detection. **Analytica chimica acta**, v. 630, n. 2, p. 107-115, 2008.
46. BLASCO, Antonio Javier; GONZÁLEZ, María Cristina; ESCARPA, Alberto. Electrochemical approach for discriminating and measuring predominant flavonoids and phenolic acids using differential pulse voltammetry: towards an electrochemical index of natural antioxidants. **Analytica Chimica Acta**, v. 511, n. 1, p. 71-81, 2004.
47. LINO, F. M. A. et al. Voltammetric and spectrometric determination of antioxidant capacity of selected wines. **Electrochimica Acta**, v. 128, p. 25-31, 2014.
48. Enache, T. A., & Oliveira-Brett, A. M. (2011). Phenol and para-substituted phenols electrochemical oxidation pathways. *Journal of Electroanalytical Chemistry*, 655(1), 9-16.