

## AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE ANTIOXIDANTE DE EXTRATOS DE JUÇARA ANTES E APÓS A FERMENTAÇÃO

Data de submissão: 09/03/2023

Data de aceite: 03/04/2023

### **Maria de Lourdes Murbach Tomba**

Universidade Estadual de Londrina  
Londrina - Paraná  
<http://lattes.cnpq.br/3109253689115188>

### **Brenda Francisconi Diaz**

Universidade Estadual de Londrina  
Londrina – Paraná  
<http://lattes.cnpq.br/4452156109594418>

### **Karla Bigetti Guergoletto**

Universidade Estadual de Londrina  
Londrina – Paraná  
<http://lattes.cnpq.br/6772794774535913>

**RESUMO:** Antioxidantes são substâncias que agem protegendo as células contra a oxidação causada pelo excesso de radicais livres. São encontrados em grande variedade de produtos de origem vegetal, como por exemplo os frutos jambolão, açaí e juçara, ricos em compostos fenólicos. O processo de fermentação é amplamente utilizado na indústria de alimentos para melhorar as características sensoriais, conservação e disponibilidade de nutrientes de um determinado alimento. Neste sentido, esse processo pode contribuir com o aumento do potencial antioxidante de frutas, por liberar compostos fenólicos com maior atividade,

bem como com enzimas antioxidantes provenientes dos microrganismos. Diante disso, o objetivo do estudo foi realizar uma revisão bibliográfica, a partir das bases de dados Periódicos Capes e Scielo, sobre os métodos *in vitro* de avaliação da atividade antioxidante da polpa de juçara, bem como avaliar o efeito da fermentação com *Limolactobacillus reuteri* por 24h à 37°C, na atividade antioxidante da polpa utilizando testes colorimétricos DPPH, FRAP, ABTS e determinação de fenólicos totais. Para o DPPH, os resultados apontaram  $32,67 \pm 3,57$  mg/100 mL, antes e  $25,27 \pm 4,32$  mg/100 mL após a fermentação. No método FRAP, houve uma redução ainda maior da atividade antioxidante após a fermentação, sendo  $129.239,67 \pm 2954,59$  mg/100 mL e  $100.764,67 \pm 6.142,65$  mg/100 mL, antes e após a fermentação, respectivamente. Para o método ABTS foram de  $46.380,56 \pm 11.471,05$  ug/100mL, antes da fermentação, e de  $35.963,89 \pm 4259,84$  ug/100mL, após a fermentação. Não foi observada alteração significativa no teor de compostos fenólicos totais após a fermentação. Ressalta-se que, apesar da literatura mostrar aumento da atividade antioxidante proveniente do processo de fermentação, no estudo em questão a

fermentação não foi capaz de aumentar a atividade antioxidante dos frutos de juçara.

**PALAVRAS-CHAVE:** Radicais livres; *Euterpe edulis* Mart., *Limolactobacillus reuteri*.

## EVALUATION OF THE ANTIOXIDANT ACTIVITY OF JUÇARA EXTRACTS BEFORE AND AFTER FERMENTATION

**ABSTRACT:** Antioxidants are substances that act by protecting cells against oxidation caused by excess free radicals. They are found in a wide variety of products of plant origin, such as jambolan, açaí and juçara fruits, which have a large amount of phenolic compounds. The fermentation process is widely used in the food industry to improve the sensory characteristics, conservation and nutrient availability of a given food. In this sense, this process can contribute to the increase of the antioxidant potential of fruits by releasing phenolic compounds with greater activity, contributing with antioxidant enzymes from microorganisms. Therefore, the objective of the study was to carry out a bibliographical review, from the Periódicos Capes and Scielo databases, on the in vitro methods of evaluating the antioxidant activity of juçara pulp, as well as to evaluate the effect of fermentation with *Limolactobacillus reuteri* by 24h at 37°C, on the antioxidant activity of the pulp using colorimetric tests DPPH, FRAP, ABTS and irrigation of total phenolics. For DPPH, the results showed 32.67±3.57 mg/100 mL, before and 25.27±4.32 mg/100 mL after fermentation. In the FRAP method, there was an even greater reduction in antioxidant activity after fermentation, being 129,239.67±2954.59 mg/100 mL and 100,764.67± 6,142.65 mg/100 mL, before and after fermentation, respectively. For the ABTS method, they were 46,380.56±11,471.05ug/100mL, before fermentation, and 35,963.89±4259.84ug/100mL, after fermentation. There was no significant change in the content of total phenolic compounds after fermentation. However, it is important to note that despite the literature showing an increase in antioxidant activity with the fermentation process, in the study in question fermentation was not able to increase the antioxidant activity of juçara fruits.

**KEYWORDS:** Free radicals; *Euterpe edulis* Mart., *Limolactobacillus reuteri*.

## 1 | INTRODUÇÃO

Antioxidantes são substâncias protetoras contra a oxidação causada pelo excesso de radicais livres, sua ação consiste num mecanismo de defesa do organismo, que produz e/ou absorve essas substâncias da dieta, como uma forma de corrigir o desequilíbrio entre radicais livres e antioxidantes e assim, prevenir a oxidação, a qual pode acarretar prejuízos ao organismo.

Os antioxidantes, de forma geral, são encontrados em grandes quantidades em produtos de origem vegetal, portanto, uma alimentação saudável e equilibrada, baseada sobretudo em produtos *in natura* é extremamente importante para a prevenção de doenças, considerando o potencial dos antioxidantes de prevenir ou adiar o início de doenças. Dentre a ampla variedade de produtos de origem vegetal fontes de antioxidantes, os frutos açaí, juçara e jambolão são bons exemplos, os quais possuem grande quantidade de compostos fenólicos, o que lhes garante alto valor nutricional, sendo alvos de muitas pesquisas. Aliado

a qualidade nutricional desses alimentos, o processo de fermentação é usado por indústrias de alimentos para melhorar as características sensoriais, conservação e disponibilidade de nutrientes, uma vez que pode contribuir com o aumento do potencial antioxidante de frutas por liberar composto fenólicos com maior atividade, contribuir com enzimas antioxidantes provenientes dos microrganismos, entre outros.

Existem, na literatura, diversos métodos propostos para avaliação da atividade antioxidante, podendo ser colorimétricos, eletroquímicos ou biológicos. Os métodos colorimétricos se baseiam na habilidade dos componentes antioxidantes em neutralizar radicais. Os eletroquímicos avaliam a atividade antioxidante de substâncias distribuídas em vegetais, relacionando potenciais de oxidação e intensidade de corrente com a capacidade antioxidante, sendo mais seletivos que os colorimétricos. E os biológicos buscam avaliar a capacidade do antioxidante em proteger contra a peroxidação lipídica e oxidação proteica.

Diante disso, o objetivo do estudo foi realizar uma revisão bibliográfica sobre os métodos de avaliação da atividade antioxidante utilizando as bases de dados dos Periódicos Capes e Scielo e avaliar o efeito da fermentação na atividade antioxidante da polpa de juçara antes e após um processo fermentativo utilizando testes colorimétricos DPPH, FRAP, ABTS e determinação de fenólicos totais.

## **2 | METODOLOGIA**

### **2.1 Revisão bibliográfica**

Para a revisão bibliográfica e entendimento sobre o assunto, foi realizada uma pesquisa sobre os métodos de avaliação da atividade antioxidante utilizando base de dados da Scielo e Periódicos da Capes, utilizando os termos: antioxidantes, *Euterpe edulis*, atividade antioxidante, fermentação.

### **2.2 Determinação da atividade antioxidante de extrato de juçara antes e após a fermentação**

#### *2.2.1 Polpa de juçara*

A polpa de juçara (*Euterpe edulis*) obtida da safra do ano de 2022, colhida na cidade de Morretes (Paraná, Brasil), foi fornecida pronta e congelada pela empresa Estrela Guia Produtos Naturais (Morretes, Paraná, Brasil).

Antes do uso, a polpa foi descongelada sob refrigeração por 18 h, filtrada para remoção de resíduos sólidos e pasteurizada à 80°C por 1 min conforme Guergoletto, Mauro e Garcia (2017).

### 2.2.2 *Microorganismo e processo fermentativo*

O microrganismo *Limosilactobacillus reuteri* LR92 foi fornecido pela Clerici Sacco (Itália), e mantido congelado na concentração de 0,01% (p/v) em polpa de juçara pasteurizada contendo 20% de glicerol estéril até o momento dos testes.

Para o processo fermentativo, primeiramente o microrganismo congelado foi ativado em estufa à 37 °C por 24 horas e, em seguida, 1% deste pré-inóculo foi adicionado à 100 mL de polpa de juçara pasteurizada e incubado novamente por 24h à 37 °C.

A atividade antioxidante foi determinada retirando amostras nos tempos 0 e 24 h de fermentação, em triplicata.

### 2.2.3 *Determinação da atividade antioxidante*

Considerando os diversos tipos de radicais livres e os diferentes sítios de ação, foram adotados diferentes métodos de determinação da atividade antioxidante a fim de representar o mais próximo do potencial antioxidante da substância. Os métodos para determinação do potencial de eliminação de radicais livres foram o 2,2 Difenil-1-picrilhidrazil (DPPH), realizado conforme Brand-Williamns, (1995), e o radical catiônico [2.2 'azinobis (ácido 3-etilbenziazolina sulfônico-6)] (ABTS. +) conforme Boroski et al., (2015). Foi utilizado também o ensaio FRAP (Ferric Reducing Ability Power) que determina o poder de redução de antioxidantes utilizando o reagente ferricianeto de potássio ou o hexacianoferrato (III) de potássio, conforme Park et al. (2017). O conteúdo de fenólicos totais foi analisado de acordo com o método de Folin-Ciocalteu (FANG; BHANDARI, 2011) usando ácido gálico como padrão.

## 3 | RESULTADOS E DISCUSSÃO

### 3.1 *Revisão da literatura*

Com grande relevância comercial e farmacológica devido a sua função no combate aos radicais livres e conseqüentemente ao dano oxidativo, compostos antioxidantes têm ganhado destaque. Diante disso têm sido desenvolvidos diversos métodos para a determinação e quantificação desses compostos (BORGES et al., 2011).

Resultado de um desequilíbrio entre a produção de radicais livres e a ação do sistema de defesa antioxidante, o estresse oxidativo pode ser relacionado ao envelhecimento e a patologias decorrentes de lesões nas células e outros prejuízos que esse processo causa no organismo (DIAS, 2020).

A produção de radicais livres é parte fundamental do nosso metabolismo, sendo eles produzidos naturalmente ou por disfunções biológicas, além de desenvolverem diversas funções no organismo. Porém, seu excesso apresenta efeitos deletérios, como peroxidação lipídica e agressão a proteínas, enzimas, carboidratos e DNA, os chamados

danos oxidativos, que podem ocasionar em diversas patologias. Portanto, como um mecanismo de defesa do organismo, os antioxidantes são produzidos ou absorvidos da dieta, os quais atuam prevenindo a oxidação (BARREIROS et al., 2006). A instalação do processo de estresse oxidativo decorre a partir da existência de um desequilíbrio entre compostos oxidantes e antioxidantes, em favor da geração excessiva de radicais livres ou em detrimento da velocidade de remoção destes, e uma vez instalado, o processo oxidativo leva à oxidação de biomoléculas, o que tem como consequência a perda de suas funções biológicas ou o desequilíbrio na homeostase, causando danos nas células e tecidos (BARBOSA et al., 2010).

Antioxidantes exercem efeitos benéficos em vários níveis do processo de oxidação lipídica, como na formação dos radicais livres, diminuindo a concentração de parte do oxigênio consumido pela mitocôndria que é desviado para vias metabólicas distintas, dando origem aos radicais livres; na fase de iniciação da oxidação, evitando que isso ocorra; quelando íons metálicos; e decompondo produtos primários a compostos que não são radicais (SUCUPIRA et al., 2012).

Segundo Oliveira (2015), os antioxidantes estão extremamente relacionados a melhoria da qualidade de vida, sendo capazes de prevenir ou adiar o início de doenças, através de sua capacidade de combater os radicais livres e, conseqüentemente, evitar danos oxidativos. Assim como acontece em nosso organismo, os radicais livres, quando em excesso, também têm efeito deletério sobre plantas e alimentos, modificando odor e sabor dos mesmos e levando a perdas nutricionais. Nesses casos pode ocorrer por processos térmicos, absorção de raios gama ou radiação ionizante, ou por iniciação química envolvendo íons metálicos ou metaloproteínas (ALVES et al., 2010).

### *3.1.1 Antioxidantes naturais em alimentos*

Os antioxidantes estão presentes de forma natural em grande variedade de vegetais, proporcionando qualidade nutricional a esses alimentos, e essa classe de substâncias inclui tocoferóis, carotenóides, vitamina C e compostos fenólicos, os quais possuem estrutura molecular similar entre eles e atuam por vários mecanismos conferindo defesa contra a ação dos radicais livres (PRADO, 2009). Considerado um dos mais potentes antioxidantes naturais, o ácido ascórbico, vitamina C, atua como sequestrador de radicais de forma muito eficaz, além de atuar como pró-oxidante; os carotenóides atuam de forma muito eficiente na captura de radicais de oxigênio singlete e peroxila, e possuem caráter lipofílico, permitindo sua atuação como antioxidante sobre as lipoproteínas HDL e LDL; os compostos fenólicos atuam combatendo a geração de radicais livres de diferentes formas, e também age reparando a lesão a moléculas atacadas pelos radicais livres (SUCUPIRA et al., 2012).

Devido ao valor nutritivo e efeitos terapêuticos, o consumo de frutas tropicais tem apresentado expressivo aumento, e o reconhecimento dos benefícios desses alimentos,

vem não só da presença de minerais, vitaminas e fibras em sua composição, mas também dos antioxidantes, sobretudo os denominados polifenóis, os quais possuem capacidade de captar radicais livres (KUSKOSKI et al., 2006).

A juçara, também chamada “açai da Mata Atlântica”, é extraída da palmeira *Euterpe edulis* Mart., e sua composição consiste em grande quantidade de água (80 a 90%) e partes comestíveis caracterizadas por alto teor de lipídeos, sobretudo ácidos graxos monoinsaturados e poli-insaturados como ácido  $\alpha$ -linolênico, ácido linoléico conjugado e ácido oleico, e variedade de compostos fenólicos como antocianinas, flavonoides e ácidos fenólicos, além de muitos outros compostos bioativos, composição que garante significativa atividade antioxidante ao fruto, que tem como grandes atrativos suas propriedades nutricionais, energéticas e funcionais (LEITE et al., 2018).

### 3.1.2 Métodos de extração de antioxidantes

Para a extração dos compostos antioxidantes em vegetais, existem duas classes de métodos, os tradicionais utilizando solventes orgânicos e a Extração Supercrítica, que consiste num método de transformação do dióxido de carbono em fluido supercrítico mediante mudanças de pressão e temperatura. Considerando que esses compostos podem sofrer influência de diversos fatores, tais como natureza do vegetal utilizado para extração, solvente empregado, tamanho das partículas, tempo e temperatura de extração, não há como definir qual método é mais eficiente (ANDREO et al., 2006).

Mas, a escolha do método de extração a ser aplicado deve levar em conta o objetivo da análise e do composto que se deseja extrair, pois tanto solvente quanto método influenciam na qualidade e na composição final da substância (ANDRADE, 2011).

A utilização de solventes orgânicos como método de extração demanda grande quantidade de solventes para a realização e consiste num processo longo, características que constituem desvantagens ao método (GRATON et al., 2017). Os solventes orgânicos mais utilizados são etanol, propanol, metanol, acetona e acetato de etila, os quais são altamente inflamáveis e não biodegradáveis. A técnica de extração por solventes, além de provocar redução ou até mesmo perda da atividade biológica e deixar resíduos do solvente utilizado na substância extraída, pode ainda causar degradação química (SILVA et al., 2022).

Considerada uma alternativa à extração por solventes, a Extração Supercrítica é uma técnica na qual são usados solventes acima dos seus pontos críticos, ou seja, sob condições críticas de pressão e temperatura, com o objetivo de extrair componentes solúveis de uma mistura. Considerando que a extração com solventes possuem efeitos tóxicos devido ao resíduos utilizados, uma das motivações para a opção pelo uso da extração supercrítica, é o fato do CO<sub>2</sub> supercrítico, por exemplo, ser ambientalmente aceito (GONÇALVES et al., 2011). Sendo assim, a extração supercrítica é classificada como um

processo tecnológico limpo, visto que permite a obtenção de extratos isentos de resíduos tóxicos, além de proporcionar melhor qualidade final ao extrato, quando comparado a resultados de técnicas convencionais (JUSTO et al., 2008).

A extração com gases sob condições críticas de pressão e temperatura constitui um método moderno e eficiente, no qual o fluido é submetido à pressão e temperatura acima do seu ponto crítico tornando-se supercrítico. Portanto, o estado supercrítico de fluidos é o estado no qual líquido e gás são indistinguíveis entre si. O fluido mais utilizado nesse método é o dióxido de carbono (CO<sub>2</sub>), devido a sua temperatura moderada (31,3°C) e pressão crítica de 72,9 atm, características que o fazem gasoso em temperatura ambiente, porém, quando submetido a condições críticas de pressão e temperatura torna-se menos efetivo para a extração de compostos com maior polaridade em fontes naturais, devido a sua baixa polaridade (ANDREO et al., 2006).

### *3.1.3 Métodos de determinação da capacidade antioxidante*

Apesar da importância dos antioxidantes nos alimentos, no Brasil os alimentos industrializados ainda não apresentam a capacidade antioxidante total ou a atividade antioxidante do alimento em questão em seus rótulos assim como apresentam as tabelas nutricionais que expressam quantidade de gorduras, proteínas, carboidratos, fibras, entre outros componentes. A ausência de tal informação nos rótulos, em parte, se deve à falta de um método padrão que quantifique a capacidade antioxidante total com exatidão (NAKAMURA et al., 2013).

Uma vez que existe grande variedade de radicais livres e que estes atuam de diferentes formas nos organismos vivos, não existe um método universal que quantifique a atividade antioxidante precisamente. Para tanto, os métodos que avaliam a atividade antioxidante precisam levar em conta quais os tipos de radicais gerados, onde, como, e a extensão do dano oxidativo causado, para que a avaliação seja mais precisa (ALVES et al., 2010).

Segundo Borges (2011), os métodos de determinação da atividade antioxidante são divididos em três categorias: eletroquímicos, colorimétricos e biológicos.

A maioria dos métodos de avaliação da capacidade antioxidante baseia-se num mesmo princípio, no qual, através de um espectrofotômetro, monitora-se a capacidade de uma amostra antioxidante em eliminar ou neutralizar um radical sintético gerado. A redução ou neutralização do radical resulta de dois mecanismos de reação na determinação da capacidade antioxidante, um mecanismo se baseia na transferência de elétrons (TE) e o outro na transferência de átomos de hidrogênio (TAH). No caso do método DPPH, o mecanismo principal é pela TE, visto que a reação de TAH entre o antioxidante e o radical DPPH• é reversível, sendo considerada uma via marginal (OLIVEIRA, 2015).

### 3.1.4 Métodos colorimétricos

Os métodos colorimétricos, também chamados espectrofotométricos, são bastante simples e envolvem a capacidade de “descolorante da amostra”, dentre eles destacam-se o DPPH e o ABTS, os quais se baseiam na habilidade dos componentes antioxidantes em neutralizar radicais, e recebem o nome do próprio radical que tende a ser neutralizado pelo antioxidante, radical 1,1-difenil-2-picrilhidrazila (DPPH) e radical 2,2'-azinobis 3-etilbenzenotiazolina-6-sulfônico (ABTS) (BORGES et al., 2011).

O método DPPH apresenta como vantagens a facilidade, precisão e reprodutibilidade na avaliação da atividade antioxidante de extratos vegetais, sucos de frutas e substâncias puras (ALVES et al., 2010). É um método colorimétrico indireto, bem antigo, que não envolve drásticas condições de temperatura ou oxigenação, sendo muito utilizado na determinação da atividade antioxidante de substâncias isoladas, tais como compostos fenólicos, fenólicos totais, flavonóis, cumarinas, quitosanas, antocianinas, antocianidinas, carotenoides etc.

O mecanismo pelo qual esse método avalia a capacidade antioxidante é o seguinte: o radical DPPH, por ação de um antioxidante, é reduzido a difenil-picril-hidrazila, passando de coloração púrpura a amarela, a qual pode ser monitorada (por espectrofotômetro) pela diminuição da absorvância, ou seja, capacidade de absorver a luz, podendo, a partir daí, determinar a porcentagem da atividade antioxidante, a qual corresponde a quantidade do radical DPPH consumida pelo antioxidante. Quanto mais baixa a absorvância, menor a atividade sequestrante de radicais livres (BORGES et al., 2011). O monitoramento por espectrofotômetro da diminuição da absorvância do radical DPPH•, deve ser realizado sempre no escuro, visto que a luz interfere diretamente na reação desse radical com uma substância, podendo alterar os resultados, uma vez que acelera a diminuição da absorvância (OLIVEIRA, 2015).

O método DPPH também avalia a atividade antioxidante de formas sintéticas, e uma restrição desse método é a avaliação da atividade antioxidante de substâncias coloridas, pois se trata de um método colorimétrico podendo haver interferência por pigmentos (BORGES et al., 2011). Mas, como ressalta Oliveira (2015), a avaliação antioxidante não deve se basear apenas em uma única metodologia, é necessário o uso de outros métodos para caracterizar completamente um composto como antioxidante. Além disso, outra limitação do método DPPH é a maior solubilidade do solvente usado para dissolver o DPPH• quando em meios orgânicos como metanol e etanol, que acontece devido a maior facilidade de doação de um átomo de hidrogênio do etanol ou do metanol, o que aumenta a solubilidade e a taxa de transferência de hidrogênio para o radical DPPH•, assim, a carga que se deslocava sobre o mesmo, se restringe ao átomo de nitrogênio que está localizado no meio do radical DPPH•, aumentando a reatividade do radical com o antioxidante. Em meios aquosos a solubilidade é menor, deixando o radical DPPH• pouco acessível para a reação com o antioxidante, o que afeta a transferência de elétron ou



hidrogênio, interferindo, conseqüentemente, na avaliação da capacidade antioxidante da amostra (OLIVEIRA, 2015).

E uma das principais desvantagens do método DPPH são as diferentes formas de interpretação e determinação da capacidade antioxidante de determinada substância, o que impossibilita a comparação entre resultados de diferentes pesquisas. Tal desvantagem seria eliminada com a padronização do método (OLIVEIRA, 2015).

Outro método bastante utilizado na determinação da atividade antioxidante é o ABTS, que também consiste na captura do radical (2,2'-azinobis - 3-etilbenzotiazolina-6-ácido sulfônico) pelo antioxidante. É um método relativamente simples, o que permite sua aplicação na rotina de laboratório sem grandes dificuldades, constituindo uma vantagem desse método em relação a outros (BORGES et al., 2011).

Avaliando a capacidade antioxidante da casca de abacaxi, Souza (2021) observou que o método ABTS possui maior capacidade de sequestro do radical quando comparado ao DPPH.

O valor TEAC caracteriza a capacidade da amostra testada em reagir com ABTS, bem como em inibir processos oxidativos. Com muitos compostos fenólicos e em outras amostras com substâncias com atividade antioxidante isso ocorre lentamente. O resultado da determinação do TEAC é dependente do tempo de incubação assim como da taxa da amostra quantificada, e isso, juntamente com a pouca seletividade do ABTS na reação com átomos doadores de hidrogênio constituem uma limitação desse método. Assim, resultados divergentes de TEAC podem estar relacionados a fatores limitantes como a diferença no tempo de incubação ou na estratégia de obtenção de ABTS (BORGES et al., 2011).

### *3.1.5 Métodos biológicos*

A outra categoria de métodos de avaliação da capacidade antioxidante, os métodos biológicos, buscam avaliar a capacidade do antioxidante em proteger contra a peroxidação lipídica e a oxidação proteica (BORGES et al., 2011). Um exemplo desses métodos é o TBARS, que usa o ácido tiobarbitúrico como reagente para a determinação de espécies reativas, sendo usado tanto para testes in vitro quanto in vivo. Esse teste é baseado na reação do ácido tiobarbitúrico com os produtos de decomposição dos hidroperóxidos, no qual um dos principais produtos formados no processo oxidativo é o malonaldeído, um aldeído com 3 átomos de carbono, que reage com duas moléculas de TBA para formar um complexo de cor vermelha.

### *3.1.6 Métodos eletroquímicos*

As técnicas eletroquímicas avaliam a atividade antioxidante de substâncias distribuídas em vegetais. A Voltametria cíclica (VC) e Voltametria de pulso diferencial

(VPD), correlacionam potenciais de oxidação e intensidade de corrente com a capacidade antioxidante, e são consideradas mais seletivas que métodos espectrométricos. Enquanto a coulométrica, se baseia no princípio da proporcionalidade entre número de elétrons que fluem pelo eletrodo e quantidade em moléculas de substância eletroativa envolvida na reação (ALVES et al., 2010).

As técnicas voltamétricas são mais seletivas, sensíveis e reprodutíveis para avaliar a atividade antioxidante. A VC fornece informações sobre os processos de oxidação e de redução, que podem ser interpretados como: quanto maior o potencial de oxidação, menor o poder doador de elétron da amostra e, conseqüentemente, menor seu poder antioxidante (REIS, 2009).

São métodos considerados alternativos a situações em que os métodos convencionais podem ser comprometidos. O que diferencia esses métodos dos demais é a sua capacidade de caracterizar o mecanismo redox, tornando-o instrumento não só de avaliação da capacidade antioxidante, mas também de parâmetros físico-químicos (BENJAMIN, 2016).

### *3.1.7 Métodos cromatográficos*

Os métodos cromatográficos consistem em um grupo de técnicas de separação de misturas. O tipo mais conhecido é o HPLC, que tem como característica sua grande sensibilidade, e é considerado um método valioso na determinação rápida da atividade antioxidante de diversos produtos. Além disso, o HPLC compartilha características com outro método de análise de antioxidantes, a eletroforese em gel de poliacrilamida (PAGE) (BORGES et al., 2011).

Esses métodos podem ser de quatro tipos, sendo eles: cromatografia líquida clássica (CLC), que consiste na fluidez da fase móvel com auxílio da força gravitacional ou com aplicação de pressão reduzida, sendo um método longo; cromatografia por exclusão molecular, eficaz na purificação de amostras, visto que é capaz de remover substâncias interferentes que podem estar presentes nas amostras; cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE), a qual possui ampla aplicação de amostras, considerando sua capacidade de identificação de aminoácidos, proteínas, ácidos nucleicos, hidrocarbonetos, carboidratos, drogas, terpenoides, agrotóxicos, antibióticos e esteroides; e a cromatografia em camada delgada (CCD), utilizada para isolamento de um ou mais compostos de uma amostra, é uma técnica de fácil execução e compreensão (FERREIRA, 2019).

A capacidade que essa classe de métodos possui de separação e sensibilidade na detecção de substâncias de misturas complexas, tornou-os de utilização frequente para análise de produtos naturais (BENJAMIN, 2016).

### 3.2 Avaliação da atividade antioxidante de extrato de juçara antes e após fermentação por *Limolactobacillus reuteri*

Após a revisão bibliográfica foi avaliada a atividade antioxidante da polpa de juçara antes e após fermentação com *Limolactobacillus reuteri* por 24h à 37°C e os resultados estão apresentados na Tabela 1.

Os resultados apontaram uma redução média de 22,5% da atividade antioxidante após o processo de fermentação para todos os métodos avaliados, o que difere dos resultados encontrado por Guergoletto, Mauro e Garcia (2017), que obtiveram um aumento na atividade antioxidante de extrato de juçara após fermentação à 32 °C por 30h com *L. reuteri* e *L. plantarum* quando utilizou os métodos de determinação da atividade antioxidante ABTS e DPPH.

No presente estudo não foi observado alteração significativa no teor de compostos fenólicos totais antes e após a fermentação.

Ressalta-se que apesar da literatura mostrar aumento da atividade antioxidante com o processo de fermentação, no estudo em questão este processo não foi capaz de aumentar a atividade antioxidante dos frutos de juçara. De acordo com Hur et al., (2014), a atividade antioxidante em produtos fermentados pode ser influenciada por fatores como espécie de microrganismos, pH, temperatura, conteúdo de água, tempo de fermentação, condições aeróbicas entre outros.

Amostra	Fenólicos totais (mg/100mL)	Análise		
		DPPH (mg/100mL)	ABTS (mg/100mL)	FRAP (mg/100mL)
Antes fermentação	164,7±22,3 <sup>a</sup>	32,7±3,6 <sup>a</sup>	46.380,6±11471 <sup>a</sup>	129.239,7±2954 <sup>a</sup>
Após fermentação	162,6±35 <sup>a</sup>	25,3±4,3 <sup>b</sup>	35.963,9±4259 <sup>b</sup>	100.764,7±6142 <sup>b</sup>

Resultados em média ± DP de três repetições.

Letras minúsculas sobrescritas diferentes na mesma coluna denotam diferenças significativas ( $p < 0,05$ ) pelo teste Tukey.

Tabela 1 - Fenólicos totais e capacidade antioxidante de extrato de juçara antes e após fermentação por *L. reuteri*

## 4 | CONCLUSÕES

Conclui-se que a determinação da atividade antioxidante em alimentos é cada vez mais necessária para avaliar o potencial destes em combater os danos dos radicais livres e do estresse oxidativo. Entretanto, a escolha do método deve ser baseada na forma de ação do composto presente no alimento, podendo ser colorimétrico, eletroquímico ou biológico, sendo que o uso de mais de um método é recomendado para estimar corretamente a

atividade antioxidante. Nos ensaios laboratoriais, foi observado que a fermentação do extrato de juçara pode ocasionar redução no potencial antioxidante desta fruta, quando determinada pelos métodos colorimétrico DPPH, ABTS e FRAP. Para uma avaliação mais precisa, métodos biológicos devem ser realizados em conjunto aos colorimétricos.

## REFERÊNCIAS

ALMEIDA, R. L. J. et al. **Influence of time and temperature of ultrasound on anthocyanin content and instrumental color of jambolan pulp (*Syzygium jambolanum*)**. Research, Society and Development, [S. l.], v. 9, n. 7, p. 1-13, maio 2020.

ALVES, Clayton Q. et al. **Métodos para determinação de atividade antioxidante *in vitro* em substratos orgânicos**. Química Nova, Bahia, v. 33, n. 10, p. 2202-2210, out. 2010.

ANDRADE, Kátia Suzana. **Avaliação das Técnicas de Extração e do Potencial Antioxidante dos Extratos obtidos a partir de casca e de borra de café (*Coffea arabica* L.)**. Tese (Mestrado em Engenharia de Alimentos) - Universidade Federal de Santa Catarina. Florianópolis, p. 132. 2011.

ANDREO, Denise; JORGE, Neuza. **Antioxidantes Naturais: Técnicas de Extração**. B. CEPPIA, Curitiba, v. 24, n. 2, p. 319-336, jul./dez. 2006.

BARBOSA, Kiriaque Barra Ferreira et al. **Estresse oxidativo: conceito, implicações e fatores modulatórios**. Revista de Nutrição, Campinas, v. 23, n. 4, p. 629-643, jul-ago. 2010.

BARREIROS, André L. B. S.; DAVID, Jorge M.; DAVID, Juceni P. **Estresse oxidativo: relação entre geração de espécies reativas e defesa do organismo**. Química Nova, v. 29, n. 1, p. 113-123, mar. 2006.

BENJAMIN, Stephen Rathinaraj. **Desenvolvimento de Métodos Eletroanalíticos para Avaliação da Capacidade Antioxidante**. Tese (Doutorado em Inovação Farmacêutica) - Universidade Federal de Goiás. Goiânia, p. 121, 2016.

BRAND-WILLIAMS, W. CUVELIER, M. E., BERSET, C. Lebensmittel-Wissenschaft Technologie (LWT). **Use of free radical method to evaluate antioxidant activity**. 28, 25-30. 1995.

BORGES, Leonardo Luiz et al. **Uma abordagem sobre métodos analíticos para determinação da atividade antioxidante em produtos naturais**. Enciclopédia Biosfera, Goiânia, v. 7, n. 12, p. 1-20, maio 2011.

DIAS, Hellen Ribeiro. **Substâncias Antioxidantes e seus benefícios para a saúde: uma Revisão Bibliográfica**. Tese (Pós-Graduação *Latu Sensu* em Ensino de Ciências) - Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia do Piauí. Uruçuí, p. 48. 2020.

FANG, Z., BHANDARI, B. **Effect of spray drying and storage on the stability of bayberry polyphenols**. Food Chemistry. 129, 1139-1147, 2011.

FERREIRA, Lucas Coral. **Extração e Isolamento de Compostos Antioxidantes das Folhas de *Syzygium malaccense* utilizando Técnicas Cromatográficas**. Tese (Bacharelado em Química) - Universidade Tecnológica Federal do Paraná (UTFPR). Pato Branco, p. 53. 2019.

GONÇALVES, Renata Menoci et al. **Comparação entre Métodos de Extração e Atividade Antioxidante de Calophyllum brasiliense, Mucuna pruriens e Piper regnellii.** EPCC – Encontro Internacional de Produção Científica Cesumar, VII, 2011, Maringá.

GRATON, I. S. et al. **Estudo da Extração e Quantificação de Fenólicos presentes no resíduo de Acerola.** COBEQ IC - Congresso Brasileiro de Engenharia Química em Iniciação Científica, XII, 2017, São Carlos.

GUERGOLETTO, K. B., MAURO, C. S. I., GARCIA, S. **Juçara (*Euterpe edulis*) pulp as a substrate for probiotic bacteria fermentation: Optimisation process and antioxidant activity.** Emirates Journal of Food and Agriculture. 29(12): 949-959 2017, 2017.

JUSTO, Oselys Rodriguez, MORAES, Ângela Maria ; BARRETO, Gisela Pizarro de Mattos. **Avaliação do potencial antioxidante de extratos ativos de plantas obtidos por extração com fluido supercrítico.** Química Nova, v. 31, n. Quím. Nova, 2008 31(7), p. 1699–1705, 2008.

KUSKOSKI, Eugenia Marta et al. **Frutos tropicais silvestres e polpas de frutas congeladas: atividade antioxidante, polifenóis e antocianinas.** Ciência Rural, Santa Maria, v. 36, n. 4, p. 1283-1287, jul-ago. 2006.

LEITE, Sabrina Torres et al. **Polpa de juçara: fonte de compostos fenólicos, aumento da atividade antioxidante e da viabilidade de bactérias probióticas de iogurte 1.** Revista Ceres, Viçosa, v. 65, n. 01, p. 16-23, jan-fev. 2018.

LIMA, C.P et al. **Conteúdo polifenólico e atividade antioxidante dos frutos da palmeira Juçara (*Euterpe edulis* Martius).** Revista Brasileira de Plantas Mediciniais, Botucatu, v. 14, n. 2, p. 321-326, 2012.

MORAIS, R. A. et al. **Determinação dos compostos fenólicos totais em cascas de frutas encontradas no cerrado brasileiro.** Revista Desafios, Tocantins, v. 7, n. Especial, p. 26-33, mar. 2020.

NAKAMURA, T.; SILVA, F. S.; SILVA, DX DA; SOUZA, MW DE; MOYA, HD. **Determinação da atividade antioxidante total e do teor total de polifenóis em amostras de folhas de chá comercializadas em saquinhos.** ABCS Health Sciences, Santo André, v. 38, n. 1, p. 8-16, 2013.

OLIVEIRA, G. L. S. **Determinação da capacidade antioxidante de produtos naturais in vitro pelo método do DPPH: estudo de revisão.** Revista Brasileira de Plantas Mediciniais, Teresina, v. 17, n. 1, p. 36-44, 2015.

PRADO, Adna. **Composição Fenólica e Atividade Antioxidante de Frutas Tropicais.** Tese (Mestrado em Ciências) - Universidade de São Paulo. Piracicaba, p. 107. 2009.

REIS, Natasha S. et al. **Métodos Eletroquímicos usados para Avaliação da Atividade Antioxidante de Produtos Naturais.** Latin American Journal of Pharmacy, 28 (6), 949-53, 2009.

SILVA, NM da; CAMPOS, TAF de; MARINS, AR de; GOMES, E. da S.; MATIUCCI, MA; SOUZA, MLR de; BENETI, SC; HECK, SC; FEIHRMANN, AC. **Avaliação de diferentes solventes combinados com a técnica de alta pressão para extração de compostos fenólicos totais e atividade antioxidante da erva-mate (*Ilex paraguariensis*).** Investigação, Sociedade e Desenvolvimento , [S. l.], v. 11, n. 6, pág. e43211629163, 2022.

SOUZA, M. E. A. O. de, et al. **Determination of the antioxidant capacity of pineapple peel powder extract by applying different extraction techniques.** Research, Society and Development, [S. l.], v. 10, n. 10, p. 1-11, 2021.

SUCUPIRA, Natália Rocha, et al. **Métodos para Determinação da Atividade Antioxidante de Frutos.** UNOPAR Cient Ciênc Biol Saúde, 14(4), 263-9, 2012.