



INSTITUTO FEDERAL DE EDUCAÇÃO CIÊNCIA E TECNOLOGIA DA
BAHIA (IFBA)
CAMPUS VITÓRIA DA CONQUISTA
DIREÇÃO ACADÊMICA - DAC
COORDENAÇÃO DE LICENCIATURA EM QUÍMICA (CLiQui)

ESTHER OLIVEIRA COQUEIRO

**DETERMINAÇÃO DA CAPACIDADE ANTIOXIDANTE TOTAL DE AMOSTRAS
DE SUCO DE UVA TINTO INTEGRAL COMERCIALIZADAS EM VITÓRIA DA
CONQUISTA - BA**

Vitória da Conquista
2024

ESTHER OLIVEIRA COQUEIRO

**DETERMINAÇÃO DA CAPACIDADE ANTIOXIDANTE TOTAL DE AMOSTRAS
DE SUCO DE UVA TINTO INTEGRAL COMERCIALIZADAS EM VITÓRIA DA
CONQUISTA - BA**

Monografia apresentada como Trabalho de Conclusão de Curso (TCC), do Curso de Licenciatura em Química do Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia da Bahia (IFBA), *Campus* Vitória da Conquista.

Orientador: Prof. Me. Wdson Costa Santos.

Vitória da Conquista
2024

FICHA CATALOGRÁFICA ELABORADA PELO SISTEMA DE BIBLIOTECAS DO IFBA, COM OS
DADOS FORNECIDOS PELO(A) AUTOR(A)

C786d Coqueiro, Esther Oliveira

Determinação da capacidade antioxidante total de amostras de suco de uva tinto integral comercializadas em Vitória da Conquista - BA: / Esther Oliveira Coqueiro; orientador Wdson Costa Santos -- Vitória da Conquista : IFBA, 2024.

54 p.

Trabalho de Conclusão de Curso (Licenciatura em Química) -- Instituto Federal da Bahia, 2024.

1. Capacidade antioxidante total. 2. Suco de uva tinto integral. 3. Método DPPH. I. Santos, Wdson Costa, orient. II. TÍTULO.

CDD/CDU

**DETERMINAÇÃO DA CAPACIDADE ANTIOXIDANTE TOTAL DE AMOSTRAS
DE SUCO DE UVA TINTO INTEGRAL COMERCIALIZADAS EM VITÓRIA DA
CONQUISTA - BA**

Monografia apresentada como Trabalho de Conclusão de Curso (TCC), do Curso de Licenciatura em Química do Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia da Bahia (IFBA), Campus Vitória da Conquista.

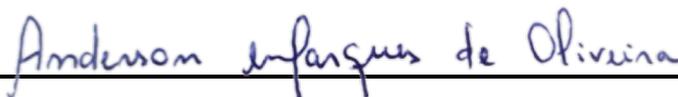
Vitória da Conquista, 02, de fevereiro de 2024.



Prof. Me. Wdson Costa Santos
Orientador – IFBA, *campus* Vitória da Conquista - BA



Prof.ª. Ma. Jeane Carla de Oliveira Padre
IFBA, *campus* Vitória da Conquista - BA



Prof. Dr. Anderson Marques de Oliveira
IFBA, *campus* Vitória da Conquista - BA

AGRADECIMENTOS

Ao Espírito Santo, fonte de todo conhecimento e sabedoria, que me dá graça, misericórdia e força todos os dias.

Aos meus pais Washington Luiz e Ivanete, que me apoiam das mais diversas formas durante toda a minha vida, me dando conselhos, suporte e calma.

A mim, pela resiliência em persistir na luta pelos meus sonhos.

À toda a minha família, e em especial aos meus avós que tanto batalharam para verem a sua descendência ter uma vida melhor.

Aos meus amigos Lígia Rodrigues, Marcus Coutinho, Safira Barreto e Liss Tauane por serem uma manifestação do cuidado de Deus na minha vida.

À Sarah Regina, estagiária dos Laboratórios de Química do Instituto, pela nossa amizade e pelo companheirismo nas tardes de pesquisa e monitoria.

A Vitor Dutra, colega de turma e amigo, que sempre traz paz em seus discursos em meio as ansiedades da graduação e da vida.

A Adelson Sousa, uma amizade consolidada já ao fim do curso, mas que proporcionou a ambos um lindo crescimento pessoal e acadêmico.

Aos demais colegas de curso: Ester Cunha, Rafael Maciel, Ana Caroline Cavalcante, Tanure Leite, Igor Alves, Vinícius Santos, Richardson Santos, Cosme Filho e Aldinéia Aguiar.

Ao meu orientador no presente trabalho e na monitoria em componentes curriculares de Química Analítica, Prof. Me. Wdson Costa pelo apoio, profissionalismo, competência e ética.

Ao meu orientador em trabalhos acadêmicos, projeto de extensão e docente do componente curricular de Trabalho de Conclusão de Curso, Prof. Dr. Fernando Brito pelo seu espírito alegre e motivador, que demonstra todos os dias o seu apoio e empenho para com os estudantes.

À Prof.^a. Dr.^a Rossana Vilar, minha preceptora na Residência Pedagógica, por me inspirar nos caminhos da docência afetiva, assertiva e bela.

Aos professores participantes da banca avaliadora do presente trabalho e aos demais professores do Curso de Licenciatura em Química e servidores do IFBA *campus* Vitória da Conquista.

A todos que colaboram no desenvolvimento desta pesquisa, na minha jornada e conclusão deste curso, o meu muito obrigada.

RESUMO

Coqueiro, E. O. **Determinação da capacidade antioxidante total de amostras de suco de uva tinto integral comercializadas em Vitória da Conquista – BA, 2024.** Trabalho de Conclusão de Curso (Graduação em Licenciatura em Química). Instituto Federal de Educação Ciência e Tecnologia da Bahia, Vitória da Conquista, 2024.

Os antioxidantes são extremamente importantes para o desenvolvimento de uma alimentação saudável e balanceada, e com a procura por praticidade no cotidiano observa-se o aumento do consumo de alimentos industrializados, destacando-se por conta destes fatores e inúmeras propriedades nutricionais, o suco de uva tinto integral. Assim, a presente pesquisa teve como objetivo determinar a capacidade antioxidante total de amostras de suco de uva tinto integral comercializadas em Vitória da Conquista – BA. Para isso, adaptou-se o método DPPH• proposto por Silveira *et al.* (2018), para determinar a Capacidade Antioxidante Total de amostras de suco de uva tinto integral e também se comparou a Capacidade Antioxidante Total das amostras de suco de uva tinto integral quanto aos resultados obtidos pelo método do DPPH• adaptado. Foram utilizadas 6 amostras de diferentes marcas de suco de uva tinto integral obtidas em supermercado de Vitória da Conquista. Notou-se melhores resultados de Capacidade Antioxidante Total para as amostras armazenadas em frasco de vidro âmbar, resultados intermediários para aquelas armazenadas em vidro transparente e o pior resultado para a que foi acondicionada em frasco de plástico transparente. Por fim, evidencia-se a importância do uso de recipientes adequados para preservação da amostra, mais especificamente da sua capacidade antioxidante e a necessidade de padronização do método DPPH• e da forma de expressar os resultados, possibilitando estabelecer comparações entre resultados disponíveis na literatura, obtidos por diferentes pesquisadores em diferentes amostras.

Palavras-chave: capacidade antioxidante total; DPPH•; suco de uva tinto integral.

ABSTRACT

Coqueiro, E. O. **Determination of the total antioxidant capacity of samples of whole red grape juice sold in Vitória da Conquista – BA**, 2024. Final paper (Chemistry Education). Federal Institute of Education, Science and Technology of Bahia, Vitória da Conquista, 2024.

Antioxidants are extremely important for the development of a healthy and balanced diet, and with the search for practicality in everyday life, there is an increase in the consumption of processed foods, highlighting due to these factors and numerous nutritional properties, grape juice full red. This research aimed to determine the total antioxidant capacity of samples of whole red grape juice sold in Vitória da Conquista – BA. For this, the DPPH• method proposed by Silveira *et al.* was adapted. (2018), to determine the Total Antioxidant Capacity of samples of whole red grape juice and also compared the Total Antioxidant Capacity of samples of whole red grape juice with the results obtained by the adapted DPPH• method. Six samples of different brands of whole red grape juice obtained from a supermarket in Vitória da Conquista were used. Better Total Antioxidant Capacity results were noted for samples stored in amber glass bottles, intermediate results for those stored in transparent glass and the worst result for those stored in transparent plastic bottles. Finally, the importance of using suitable containers to preserve the sample is highlighted, more specifically their antioxidant capacity and the need to standardize the DPPH• method and the way of expressing the results, making it possible to establish comparisons between results available in the literature, obtained by different researchers on different samples.

Keyword: total antioxidant capacity; DPPH•; whole red grape juice.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 — Mecanismos de reações para antioxidantes que sequestram radicais livres	16
Figura 2 — Etapas do processo de fabricação industrial do suco de uva integral	20
Figura 3 — Estrutura química fundamental dos flavonoides	22
Figura 4 — Estrutura química fundamental dos hidroxibenzoicos	23
Figura 5 — Estrutura química fundamental dos hidroxicinâmicos	23
Figura 6 — Estrutura química fundamental de antocianinas.	24
Figura 7 — Alterações estruturais de uma antocianina genérica em meio aquoso em função da variação do pH.	24
Figura 8 — Doação de um átomo de Hidrogênio para radical livre	26
Figura 9 — Mecanismo de reação HAT para os métodos de determinação da CAT	26
Figura 10 — Mecanismo de reação SET para os métodos de determinação da CAT.....	26
Figura 11 — Espécies que podem ser reduzidas por meio do mecanismo SET.	27
Figura 12 — Princípio do método FRAP	28
Figura 13 — Estabilização do radical ABTS• a partir da reação com um antioxidante e $K_2S_2O_8$ para a formação de ABTS • ⁺	29
Figura 14 — Mecanismo do Método ORAC	30
Figura 15 — Estrutura do radical livre estável DPPH•	31
Figura 16 — Reação de redução do DPPH•	32
Figura 17 — Oxidação do ascorbato	36
Figura 18 — Tubo de controle negativo e as soluções após a reação do Ácido Ascórbico com o DPPH•.....	41
Figura 19 — Determinação da CAT de amostras de suco de uva tinto integral	44
Figura 20 — Embalagem da amostra A.	45
Figura 21 — Embalagem das amostras B e C.....	45
Figura 22 — Embalagens das amostras D e E	46
Figura 23 — Embalagem da amostra F.....	46

LISTA DE QUADROS

Quadro 1 — Classificação dos antioxidantes a partir dos mecanismos de ação.....	15
Quadro 2 — Espécies Reativas de Oxigênio.	17
Quadro 3 — Características de moléculas antioxidantes	18
Quadro 4 — Categorização dos alimentos de acordo com o seu nível de processamento	19
Quadro 5 — Tipos de embalagens das amostras e regiões de produção.....	34

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 — Preparo das soluções para a curva padrão de Ácido Ascórbico	37
Tabela 2 — Degradação da amostra de suco de uva tinto integral.....	39
Tabela 3 — Absorbâncias dos padrões de Ácido Ascórbico com o DPPH•	41
Tabela 4 — Determinação da Capacidade Antioxidante Total	43

LISTA DE GRÁFICOS

Gráfico 1 — Espectro UV-vis do suco de uva tinto integral.....	38
Gráfico 2 — Curva Padrão de Ácido Ascórbico	42

LISTA DE SIGLAS E ABREVIATURAS

A•	Antioxidante radicalar
Abs	Absorbância
AH	Antioxidante
ABTS•	Radical (2,2-azinobis (3-etilbenzotiazolina-6-ácido sulfônico)
CAT	Capacidade Antioxidante Total
Coef.	Coeficiente
DPPH•	Radical 2,2-difenil-1-picril-hidrazil
EC ₅₀	Quantidade de antioxidante necessária para reduzir 50% da quantidade inicial de radical
EDTA	Ácido etilenodiamino tetra-acético
Eq	Equação
ER	Espécie Reativa
ERNs	Espécies Reativas de Nitrogênio
EROs	Espécies Reativas de Oxigênio
FRAP	<i>Ferric Reducing Antioxidant Power</i> ou Poder Antioxidante de Redução do Ferro
•OH	Radical Hidroxila
H ₂ O ₂	Peróxido de Hidrogênio
mg	Miligrama
mL	Mililitro
mM	Milimolar
nm	Nanômetro
O ₂ • ⁻	Radical Superóxido
ORAC	<i>Oxygen-Radical Absorbancy Capacity</i> ou Capacidade de Absorção dos Radicais de Oxigênio
pH	Potencial Hidrogeniônico
R•	Radical livre
RO•	Radical alcóxila
ROO•	Radical peróxila
t	Tempo (em dias)
UV-vis	Ultravioleta-visível

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO	13
2	OBJETIVOS	14
2.1	OBJETIVO GERAL	14
2.2	OBJETIVOS ESPECÍFICOS	14
3	REFERENCIAL TEÓRICO	15
3.1	ANTIOXIDANTES	15
3.2	SUCO DE UVA INTEGRAL	18
3.3	DETERMINAÇÃO DA CAPACIDADE ANTIOXIDANTE TOTAL (CAT)	25
4	METODOLOGIA	33
4.1	MATERIAIS, REAGENTES E EQUIPAMENTOS.....	33
4.2	PROCEDIMENTOS EXPERIMENTAIS.....	34
4.2.1	Obtenção do espectro de absorção do suco de uva tinto integral	34
4.2.2	Verificação da degradação de amostra de suco de uva tinto integral	35
4.2.3	Determinação da capacidade antioxidante pelo método do DPPH•	35
4.2.3.1	Preparo de soluções	36
4.2.3.2	Curva padrão de ácido ascórbico	37
4.2.3.3	Determinação da capacidade antioxidante total (CAT).....	37
5	RESULTADOS E DISCUSSÕES	38
5.1	ANÁLISE ESPECTROFOTOMÉTRICA DO SUCO DE UVA TINTO INTEGRAL	38
5.2	VERIFICAÇÃO DA DEGRADAÇÃO DE AMOSTRA DE SUCO DE UVA TINTO INTEGRAL	39
5.3	DETERMINAÇÃO DA CAPACIDADE ANTIOXIDANTE TOTAL (CAT)	40
6	CONCLUSÕES	48
	REFERÊNCIAS	49

1 INTRODUÇÃO

É crescente o interesse em manter um estilo de vida saudável, com isso, a população tem direcionado a atenção para a importância da inclusão de alimentos que possuem antioxidantes na dieta nutricional, já que estes são conhecidos pelos seus mais diversos efeitos benéficos no organismo, atuando na prevenção de doenças crônicas, incluindo doenças cardiovasculares, câncer e envelhecimento precoce (Almeida; Ribeiro; Costa, 2022).

Estes antioxidantes são substâncias que quando presentes em baixas concentrações, em comparação com as de um substrato oxidável, atrasam ou previnem significativamente a oxidação desse substrato (Halliwell; Gutteridge, 2015, p.77). Estes compostos são capazes de sequestrar radicais livres e de neutralizar espécies reativas de oxigênio (EROs), protegendo as células contra danos oxidativos, evitando que os organismos sofram processos de oxidação excessivos (Silva *et al* 2022; Silveira *et al*, 2018; Sucupira *et al*, 2012).

Assim, destaca-se na presente pesquisa o suco de uva tinto integral, que é conhecido pela presença de substâncias com alta capacidade antioxidante, como os compostos fenólicos. Possui também altos níveis de vitaminas, sais minerais e aminoácidos, sendo comumente ligado à diversos benefícios à saúde, como: efeito vasodilatador, melhora do sistema cardiovascular e da função neurocognitiva, além de propriedades antibacteriana, antiviral e anti-histamínica (Barroso; Araújo; Mendonça, 2022; Rizzon; Link, 2006; Rizzon; Meneguzzo, 2007).

Assim, a determinação da capacidade antioxidante de alimentos, como o suco integral de uva tinto, assume um papel crucial na avaliação de sua contribuição para uma dieta equilibrada e saudável, tornando necessários também estudos e pesquisas acerca de métodos para tal finalidade, como formas de avanço científico em colaboração a estudos químicos, nutricionais e patológicos.

O método para a determinação da capacidade antioxidante total mais utilizado atualmente é baseado no uso do radical DPPH•, pois é considerado um método simples, rápido, econômico e sensível (Sacramento *et al.*, 2023). Tal método tem como princípio fundamental a redução do radical DPPH• (radical 2,2-difenil-1-picril-hidrazil) a partir de reação com substâncias antioxidantes (Silveira *et al.*, 2018).

Diante do que foi exposto, e visando abordar a problemática sobre qual é a capacidade antioxidante total do suco de uva tinto integral, esse trabalho teve como objetivo principal determinar a capacidade antioxidante total de amostras de suco de uva tinto integral comercializadas em Vitória da Conquista - BA.

2 OBJETIVOS

2.1 OBJETIVO GERAL

- Determinar a capacidade antioxidante total de amostras de suco de uva tinto integral comercializadas em Vitória da Conquista - BA.

2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Adaptar o método DPPH• proposto por Silveira *et al* (2018), para determinar a Capacidade Antioxidante Total de amostras de suco de uva tinto integral;
- Comparar a Capacidade Antioxidante Total das amostras de suco de uva tinto integral quanto aos resultados obtidos pelo método do DPPH• adaptado.

3 REFERENCIAL TEÓRICO

3.1 ANTIOXIDANTES

Os antioxidantes são substâncias que quando presentes em baixas concentrações, em comparação com as de um substrato oxidável, atrasam ou previnem significativamente a oxidação desse substrato (Halliwell; Gutteridge, 2015, p.77). Tais substâncias, possuem essencialmente em sua estrutura, substituintes doadores de elétrons ou de hidrogênio, podendo ser produzidas pelo organismo e ingeridos a partir de alimentos ou suplementos (Silva *et al.*, 2022; Silveira *et al.*, 2018; Sucupira *et al.*, 2012). Bailey *et al.*, (1951), classifica os antioxidantes de acordo com os seus mecanismos de ação (Quadro 1).

Quadro 1 — Classificação dos antioxidantes a partir dos mecanismos de ação

Antioxidantes	Mecanismo
Primários	São compostos fenólicos que doam átomos de hidrogênio aos radicais livres os estabilizando.
Sinergistas	São substâncias com pouca capacidade antioxidante mas que aumentam a atividade dos antioxidantes primários.
Secundários	Atuam diminuindo as taxas das reações de oxidação, não sendo capazes de sequestrar radicais livres.
Removedores de oxigênio/agentes redutores	Capturam o oxigênio ou agentes redutores presentes no meio, tornando-os indisponíveis para atuarem como propagadores de oxidação.
Biológicos	São enzimas.
Agentes quelantes	Complexam íons metálicos responsáveis por catalisar a oxidação lipídica.

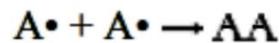
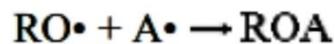
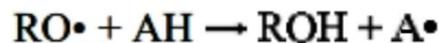
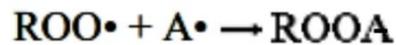
Fonte: Bailey *et al.*, (1951)¹.

Dessa forma, o presente estudo leva em consideração que os antioxidantes primários são aqueles presentes nos alimentos, entendendo-os como de origem exógena e os antioxidantes biológicos como de origem endógena (Silva *et al.*, 2022; Silveira *et al.*, 2018; Sucupira *et al.*, 2012). A Figura 1, demonstra alguns mecanismos de reação para os antioxidantes primários, sendo AH, os antioxidantes que reagem com R• (radical livre), RO• (radical alcóxila) e ROO•

¹ Quadro elaborado a partir de informações obtidas em: BAILEY, A. E. *et al.* **Industrial oil and fat products**. 1951.

(radical peroxil), os convertendo em espécies não radicalares, além de antioxidantes radicalares como $A\bullet$, que são menos reativos e mais estáveis (Bailey *et al.*, 1951).

Figura 1 — Mecanismos de reações para antioxidantes que sequestram radicais livres



Fonte: Bailey (1951)

Os radicais livres presentes nestas reações, são produzidos naturalmente pelo organismo nas diversas reações bioquímicas envolvidas nos processos biológicos/fisiológicos a partir de reações de transferência de elétrons que ocorrem no metabolismo celular. Assim, esta formação de radicais livres é um processo inevitável e importante para a respiração celular e para o sistema imunológico (Prevedello; Comachio, 2021, Cotinguiba, 2013).

Por possuírem um ou mais elétrons desemparelhados, estes radicais geralmente são muito instáveis e reativos, e quando produzidos em excesso, podem causar danos oxidativos, pois geram um desequilíbrio entre as substâncias oxidativas e os antioxidantes (Silva *et al.*, 2022). Assim, fontes exógenas como o tabagismo, alimentos ricos em gordura, álcool, estresse, poluição do ar, solventes orgânicos, radiação gama e ultravioleta, anestésicos e pesticidas, podem ser citadas como produtoras de radicais livres (Achkar, 2013; Bosco, 2006; Temple; Mechner, 2001).

Alguns destes radicais podem ser classificados junto a espécies não radicalares, sendo denominados de Espécies Reativas (ER) (Imbroinise, 2019). Algumas Espécies Reativas de Oxigênio (EROs) estão expostas no Quadro 2, que informa algumas características, a natureza de formação e seus respectivos antioxidantes.

Quadro 2 — Espécies Reativas de Oxigênio.

ER	Características	Formação	Antioxidantes
$O_2^{\bullet-}$ (Radical superóxido)	Possui ação anti-inflamatória e atua no sistema de defesa.	Escape de elétrons na cadeia transportadora de elétrons na mitocôndria.	Superóxido dismutase, Vitaminas, zinco, cobre
H_2O_2 (Peróxido de hidrogênio)	Espécie não radicalar relativamente estável que atua como sinalizador de inflamações.	Superóxido desmutase	Catalase, glutathione peroxidase e Fe^{2+}
$\bullet OH$ (Radical hidroxila)	Extremamente instável, causador de diversas patologias porém muito útil na redução de poluentes e gerado nos Processos Oxidativos Avançados.	Gerado principalmente pela reação de Fenton: $Fe^{+2} + H_2O_2 \rightarrow Fe^{+3} + \bullet OH + OH^-$ e através da reação de Haber-Weiss: $O_2^{\bullet-} + H_2O_2 \rightarrow O_2 + \bullet OH + OH^-$	Vitamina C, picnogenol, dimetil sulfóxido, EDTA
1O_2 (Oxigênio singleto)	Espécie não radicalar, altamente reativa que pode atuar contra patógenos mas está envolvida em danos causados pelo estresse oxidativo	Através da exposição à luz UV, reações enzimáticas e a partir do H_2O_2 .	Carotenóides

Fonte: Adaptado de Ruani (2019).

Estas espécies podem ser produzidas também em modificações químicas de biomoléculas, causando danos como: a fragmentação das proteínas, ativação ou desativação de enzimas, além de alterações nas moléculas de DNA a partir da oxidação dos ácidos nucleicos. Sendo assim, os radicais livres podem gerar lesão tecidual, mutação e carcinogênese, além do envelhecimento precoce, catarata, doenças neurodegenerativas e cardiovasculares, que estão associadas diretamente ao estresse oxidativo (Vasconcelos *et al.*, 2014; Achkar *et al.*, 2013; Cotinguiba, 2013; Ferreira; Abreu, 2007).

Dessa forma, os antioxidantes são excelentes aliados na construção de uma boa saúde e bem-estar, já que inibem o estresse oxidativo, atuando diretamente na prevenção de diversas patologias, combatendo processos inflamatórios e dentre outros benefícios (Mendes; Pereira; Angelis-Pereira, 2020; Del Ré; Jorge, 2012).

Os antioxidantes endógenos podem ser enzimáticos, a exemplo: a catalase, a glutathione peroxidase e o superóxido dismutase; mas também não enzimáticos, como a ferritina, a

melatonina e o ácido úrico. Já os antioxidantes exógenos, atuam em conjunto com os compostos endógenos, contribuindo para a proteção antioxidante do organismo (Mendes; Pereira; Angelis-Pereira, 2020).

O Quadro 3 revela os principais antioxidantes exógenos e algumas de suas características, que são importantes aliados ao sistema antioxidante biológico e que podem ser incluídos na dieta alimentar.

Quadro 3 — Características de moléculas antioxidantes

Vitamina C (Ácido Ascórbico)	Possui intensa atividade antioxidante contra radicais livres, eliminando-os do plasma e do citosol. É mais potente e menos tóxico dos antioxidantes naturais combatendo eficientemente as ERN's, e atuando como pró-oxidante na presença de metais de transição.
Vitamina E (tocoferóis e outros antioxidantes hidrofóbicos)	Atuam fundamentalmente nas membranas e bicamadas lipídicas. Doação de hidrogênios fenólicos aos radicais livres lipídicos, interrompendo a propagação em cadeia
Carotenos e xantofilas	Diminuem o risco de câncer, degeneração macular e cataratas. Carotenóides atuam como agentes quelantes do 1O_2 , sendo reguladores de resposta do sistema imune e atuando como antioxidante sobre as lipoproteínas LDL e HDL
Compostos fenólicos (antocianinas, taninos condensáveis e hidrolisáveis)	Categoria de substâncias antioxidantes de ocorrência natural, caracterizados também por inibirem a peroxidação lipídica e a lipoxigenase <i>in vitro</i> . Possui propriedades redutoras e as características na estrutura química possibilitam a neutralização ou sequestro de radicais livres e quelação de metais de transição, agindo tanto na etapa de iniciação como na propagação do processo oxidativo. É o maior grupo de fitoquímicos importantes na alimentação humana.

Fonte: Adaptado de Sacramento *et al.* (2023).

Estes antioxidantes de fontes naturais ou fitoquímicas, podem ser encontrados em alimentos como: cereais, frutas, óleos de sementes, além de hortaliças, ervas e especiarias (Prevedello; Comachio, 2021). De forma mais específica, pode-se citar a uva, framboesa, morango, mirtilo, amora, banana, pêssigo, maçã, produtos de soja, chá verde, pimenta vermelha doce, salsa, camomila, aipo, hortelã, curry, espinafre, vinho, cenoura, tomate, mamão e o brócolis (Al-Khayri *et al.*, 2022). Porém dentre as frutas, a uva se destaca como sendo uma das maiores fontes destes compostos (Pereira; Vidal; Constant, 2009).

3.2 SUCO DE UVA INTEGRAL

É notório que atualmente, por consequência das necessidades da vida moderna, existe um exacerbado crescimento do mercado de produtos industrializados, que visam trazer

praticidade para o cotidiano da população (Vincentini, 2015). Dessa forma, se torna nítido que os padrões de alimentação estão mudando a partir da substituição de alimentos *in natura* ou minimamente processados por produtos altamente processados e prontos para consumo (Brasil, 2014).

O Guia Alimentar para a População Brasileira (2014), é um documento oficial de diretrizes alimentares para a população, tendo como pressupostos os direitos à saúde e à alimentação adequada e saudável. Este guia traz a categorização dos alimentos de acordo com o seu nível de processamento (Quadro 3).

Quadro 4 — Categorização dos alimentos de acordo com o seu nível de processamento

Alimentos <i>in natura</i> .	Aqueles que são obtidos a partir de plantas ou de animais sem sofrer quaisquer alterações.
Ingredientes culinários.	São extraídos a partir de alimentos <i>in natura</i> , utilizados para temperar e cozinhar.
Alimentos minimamente processados	Feitos com alimentos <i>in natura</i> a partir da submissão a mínimas alterações.
Alimentos processados.	Fabricados essencialmente a partir da adição apenas de sal ou açúcar.
Alimentos multiprocessados.	Fabricados a partir de diversas etapas e técnicas de processamento, além do envolvimento de vários ingredientes no preparo.

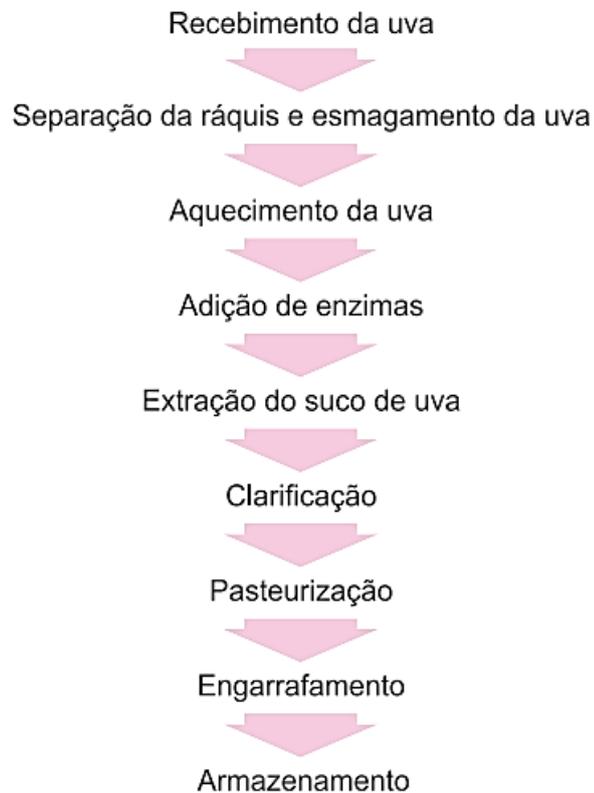
Fonte: Brasil (2014)².

Sabe-se então a partir desta categorização, que alimentos industrializados não são necessariamente considerados como não saudáveis, já que na indústria, isto depende do nível de processamento, ou seja, a quantidade de aditivos presentes e as diferentes etapas e técnicas envolvidas na fabricação (Brasil, 2014; Pellerano, 2014). Dessa forma, destaca-se neste trabalho, o suco integral de uva, que é um alimento minimamente processado e que possui uma alta capacidade antioxidante, mas que é pouco conhecido pelos consumidores (Lima *et al.*, 2014; Pontes *et al.*, 2010).

De acordo com Instrução Normativa nº 48 de 31 de agosto de 2018 do Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento, o suco de uva integral é exclusivamente o suco de uva na sua concentração natural que não foi submetido à concentração, reconstituição ou à adição de açúcares, aromas e corantes (Brasil, 2018). A Figura 2 traz informações acerca das etapas as quais esta bebida é submetida em seu processamento industrial (Brasil, 2018; Rizzon; Meneguzzo, 2007).

² Quadro elaborado a partir de informações obtidas no Guia Alimentar da População Brasileira (2014).

Figura 2 — Etapas do processo de fabricação industrial do suco de uva integral



Fonte: Rizzon; Meneguzzo (2007)

A adição de enzimas ao suco não é necessariamente considerada como aditivo, já que, em sua maioria, as enzimas adicionadas, são pertinentes para a hidrólise da pectina, substância esta que traz viscosidade para o suco. Desta forma, este processo se faz importante para a otimização da extração e para clarificação (remoção da turbidez) do suco (Rizzon; Meneguzzo, 2007).

Quanto à pasteurização, esta se faz pertinente para a eliminação de microorganismos, estabilização de proteínas e inativação de enzimas, sendo uma etapa importante para a conservação do suco. O engarrafamento é feito preferencialmente utilizando garrafas de vidro que são de fácil limpeza e também excelentes para o controle microbiológico, além de ser preferência do consumidor e ser um material 100% reciclável (Rizzon; Meneguzzo, 2007).

Porém, mesmo que vidros transparentes sejam amplamente utilizados no envasamento de bebidas por facilitarem a visualização do produto, o frasco de vidro âmbar oferece uma ótima proteção dos efeitos da luz, por absorver as radiações em comprimentos de onda menores do que 450 nm. Além disso, quanto mais espessa for a embalagem, maior é a barreira de proteção da luz para o alimento (Jaime; Bócoli; Faria, 2018).

Assim, a embalagem é um fator importante para a conservação, estabilização e preservação de propriedades físico-químicas do alimento, como forma de garantia de sua qualidade. Sendo assim, a embalagem de vidro, preferencialmente na cor âmbar, por ser um material inerte, se torna uma excelente barreira contra a ação da umidade, gases, odores e ação microbiológica, evitando a oxidação de lipídeos, vitaminas e pigmentos naturais, além da deterioração do sabor (Jaime; Bócoli; Faria, 2018; Nogueira *et al.*, 2023).

E quanto ao armazenamento, recomenda-se o empilhamento das garrafas deitadas, e que após aberta a embalagem conservar sob refrigeração, para evitar a fermentação, deterioração do produto, e prevenir a formação de pressão dentro do vidro que contém o suco de uva integral (Rizzon; Meneguzzo, 2007).

Quanto à legislação, a Portaria nº 346, de 1º de julho de 2021, do Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento, instrui que o nome da variedade da uva utilizada para sua obtenção pode estar junto a sua classificação e denominação, desde que o suco contenha, no mínimo, 75% de uvas desta variedade em sua composição e também informa que esta bebida deve apresentar as características próprias da(s) uva(s) utilizada(s) na fabricação e que não pode conter substâncias estranhas à fruta, excetuadas as previstas na legislação específica (BRASIL, 2021).

Sendo assim, em relação aos aditivos, a Instrução Normativa nº 211, de 1º de março de 2023, informa as funções tecnológicas, os limites máximos e as condições de uso para estas substâncias, a exemplo, antioxidantes sintéticos, acidulantes e conservantes. Entretanto, não existem neste documento informações específicas para o suco de uva tinto integral, e apenas acerca de que no caso de sucos concentrados (parcialmente desidratados) e de sucos desidratados, deverá ser observado o fator de diluição para o suco reconstituído (BRASIL, 2023).

Além do mais, alguns sucos possuem em seu rótulo, informações acerca da adição de antioxidantes sintéticos em sua formulação, e pode-se citar o butil-hidroxi-anisol (BHA), butil-hidroxitolueno (BHT), terc-butil-hidroquinona (TBHQ) e propilgalato (PG) como os mais utilizados na indústria de alimentos. Entretanto, existem riscos potenciais à saúde devido ao consumo destes em excesso, por conta do seu efeito carcinogênico (Romani; Martins; Soares, 2020).

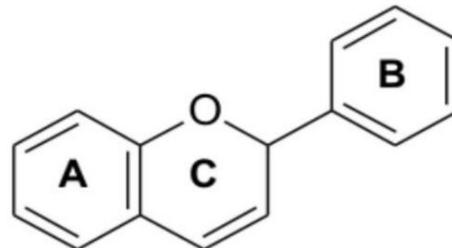
Apesar de ter alta concentração de açúcares, o suco de uva integral possui baixo teor em lipídios e cloreto de sódio, sendo de fácil digestão pelo organismo (Rizzon; Meneguzzo, 2007). Então, considerando o suco de uva integral, pode-se afirmar que este possui composição química e valor nutricional semelhantes ao da própria uva, sendo rico em vitaminas e sais

minerais, e também livre de aditivos, tendo o seu consumo diretamente associado ao bem-estar humano (Junges, 2023).

Entretanto, inúmeros fatores como o tipo da uva utilizada, a região de plantio e as etapas de processamento influenciam a composição química dos sucos (Dutra *et al.*, 2021). Porém, essa se dá essencialmente por: água, açúcares (que são constituintes energéticos), ácidos orgânicos (responsáveis pelo sabor acidificado e baixo pH), substâncias nitrogenadas (aminoácidos essenciais), compostos fenólicos (que proporcionam a cor, adstringência e efeitos antibióticos) e pectina (que contribui para viscosidade do suco) (Rizzon; Link, 2006; Rizzon; Meneguzzo, 2007).

Os compostos fenólicos, são os principais responsáveis por o classificar como um poderoso antioxidante, e possuem também atividade anti-inflamatória, antimicrobiana e anticarcinogênica (Abe *et al.*, 2007). Estes compostos podem ser flavonoides, que são polifenóis que possuem como estrutura química básica, dois anéis aromáticos ligados por três carbonos que formam um anel heterocíclico (Figura 3) (Arnos; Costa; Schmidt, 2019; Angelo; Jorge, 2007).

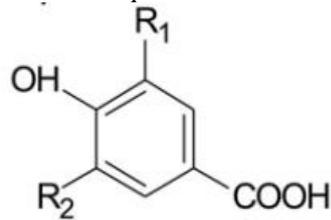
Figura 3 — Estrutura química fundamental dos flavonoides



Fonte: Angelo; Jorge (2007).

Estes fazem parte da classificação de compostos fenólicos mais estudados, e como exemplo podem ser citados os flavonóis e antocianinas. Entretanto, ainda existem os compostos não flavonoides, que são conhecidos como fenóis simples ou ácidos fenólicos. Eles têm em sua estrutura química um anel benzênico, um grupamento carboxílico e um ou mais grupamentos de hidroxila e/ou metoxila na molécula (Angelo; Jorge, 2007).

Além disso, estes ácidos podem ser classificados como derivados do ácido hidroxibenzóico (Figura 4) e derivados do ácido hidroxicinâmico (Figura 5) e podem ser citados como principais exemplos respectivamente, os ácidos p-hidroxibenzóico, protocatecuico, vanílico e siríngico e os ácidos p-cumárico, caféico e ferúlico (Angelo; Jorge, 2007).

Figura 4 — Estrutura química fundamental dos hidroxibenzoicos

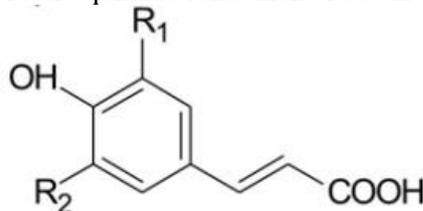
Ácido p-hidroxibenzoico: $R_1 = R_2 = H$

Ácido protocatecuico: $R_1 = OH, R_2 = H$

Ácido vanílico: $R_1 = OCH_3, R_2 = H$

Ácido siringico: $R_1 = R_2 = OCH_3$

Fonte: Angelo; Jorge (2007).

Figura 5 — Estrutura química fundamental dos hidroxicinâmicos

Ácido p-cumárico: $R_1 = R_2 = H$

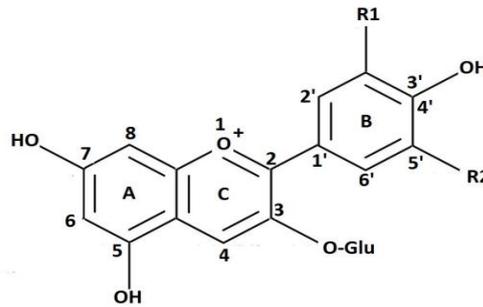
Ácido caféico: $R_1 = OH, R_2 = H$

Ácido ferúlico: $R_1 = OCH_3, R_2 = H$

Fonte: Angelo; Jorge (2007).

Estes compostos estão presentes na polpa, casca e sementes das uvas, agregando também coloração e características organolépticas. As antocianinas, por exemplo, são substâncias conhecidas como corantes naturais podem colorir os alimentos em tonalidades de azul variando para o violeta e vermelho. Possuem em sua estrutura química fundamental dois anéis aromáticos ligados por um anel heterocíclico de três carbonos, que contém um oxigênio (Figura 6) (Teixeira; Soares; Stringheta1, 2021).

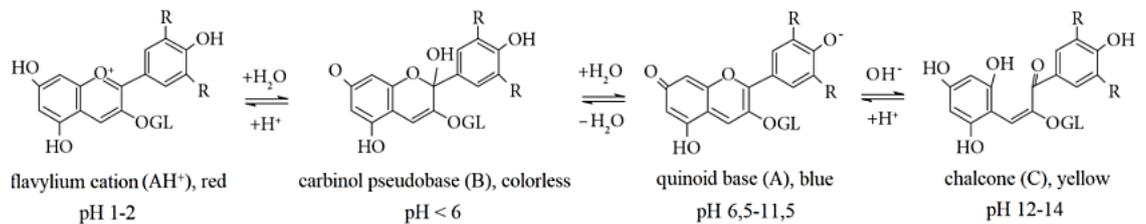
Figura 6 — Estrutura química fundamental de antocianinas.



Fonte: Teixeira; Soares; Stringheta (2021).

Além do mais, podem variar de coloração de acordo com o pH do meio, pois sofrem rearranjos estruturais (Figura 7) sendo diretamente afetadas pelas técnicas de processamento, temperaturas elevadas e armazenamento inadequado com exposição à luz, que podem alterar o aroma, a coloração e o sabor (Burin *et al.*, 2010; Falcão *et al.*, 2007).

Figura 7 — Alterações estruturais de uma antocianina genérica em meio aquoso em função da variação do pH.



Fonte: Junges (2023).

As antocianinas mais citadas na literatura como aquelas presentes nas uvas são a delphinidina, malvidina, peonidina e petudina (Teixeira; Soares; Stringheta, 2021). E sabe-se que quanto maior for a quantidade destas substâncias presentes, maior será a absorvância da amostra na análise espectrofotométrica de absorção de luz no visível, por consequência de suas contribuições à coloração (Martins; Gobbi; Linck, 2015).

Assim, o suco de uva tinto integral é um tipo de suco de uva que possui uma elevada concentração de antocianinas, porém o suco de uva integral pode ser produzido a partir de qualquer tipo de uva, que esteja na maturação adequada. Tradicionalmente, são produzidos com *Vitis vinifera*, mas no Brasil têm-se o costume de utilizar-se as uvas *Vitis labrusca* (Cosme; Pinto; Vilela, 2018).

Além disso, a vitivinicultura tem demonstrado ser um setor economicamente vantajoso, especialmente no sul do Brasil, que se destaca pela sua significativa produção de uvas, vinhos e seus derivados (Wurz *et al.*, 2017). Em relação à matéria-prima fundamental, a uva, dados do Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística (IBGE) revelam que em 2022 seu valor de

produção no Brasil atingiu R\$ 4.536.903, com uma produção total de 1.450.805 toneladas, colhidas em uma área de 74.798 hectares e um rendimento médio de 9.396 kg por hectare (IBGE, 2023). O Rio Grande do Sul desponta como o principal estado produtor, porém no que diz respeito à exportação, o Vale do São Francisco se destaca como a região responsável por enviar 95% das uvas de mesa da produção nacional (SNA, 2023).

Ainda, o Brasil, é o único país no qual ocorrem os três tipos de viticultura (produção de uvas, sucos e vinhos), por consequência da sua biodiversidade (Pereira; Rizzon; Manfroi, 2022). Sendo assim, estudos apontam que o Brasil possui um cenário favorável a comercialização de suco de uva integral, observando-se um expressivo aumento de 386,5% no volume comercializado no período de 2006 a 2015 (Wurz *et al.*, 2017).

Entretanto, a capacidade antioxidante depende diretamente do tipo de uva a partir da qual este é produzido. De acordo com estudos realizados por Almeida, Ribeiro e Costa (2022), a porcentagem de redução de DPPH• em relação ao padrão rotina do suco de uva tinto integral foi de 56% e o suco integral da uva branca 7,7%, sendo esta diferença justificada pela quantidade de antocianinas e taninos.

Assim, alguns autores verificaram que o suco de uva tinto integral possui capacidade antioxidante similar à encontrada em vinhos tintos, sendo o seu consumo mais vantajoso, pois a ausência de álcool permite que este seja consumido pela maioria das pessoas, inclusive crianças, além de ser encontrado facilmente nas gondolas dos supermercados (Malacrida; Motta, 2005). Então, devido as suas propriedades, composição, praticidade e ao valor de mercado da matéria-prima, vem crescendo de maneira significativa o consumo desta bebida (Almeida; Ribeiro; Costa, 2022).

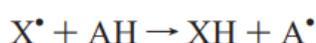
3.3 DETERMINAÇÃO DA CAPACIDADE ANTIOXIDANTE TOTAL (CAT)

Existem diversos métodos para determinar a Capacidade Antioxidante Total (CAT), sendo a escolha mais apropriada, dependente dos compostos presentes na amostra a ser estudada. Entretanto, de forma geral, os métodos químicos são monitorados por meio de um espectrofotômetro ultravioleta-visível (UV-vis), e observam a capacidade que uma amostra tem de eliminar ou neutralizar um radical sintético (Sacramento *et al.*, 2023).

Estes métodos instrumentais³ são baseados nas medidas das propriedades físicas do analito, e utilizam como mecanismos de reação, o *HAT* - *Hydrogen Atom Transfer* (Transferência de Átomo de Hidrogênio) e/ou o *SET* — *Single Electron Transfer* (Transferência de um Elétron). Tais mecanismos contêm as suas particularidades, distinguindo-se quanto ao radical iniciador e à cinética da reação (Castelo Branco; Torres, 2011).

Os métodos que funcionam a partir do mecanismo *HAT* investigam a capacidade dos antioxidantes em inibir a atividade dos radicais, através da doação de um átomo de hidrogênio (Figura 8).

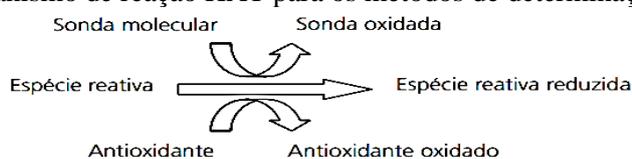
Figura 8 — Doação de um átomo de Hidrogênio para radical livre



Fonte: Prior; Wu; Schaich (2005).

Os testes desse tipo têm em sua composição: um gerador sintético de radicais, os antioxidantes (da amostra ou do padrão) e uma sonda molecular (substrato oxidável) (Figura 9) (Castelo Branco; Torres, 2011).

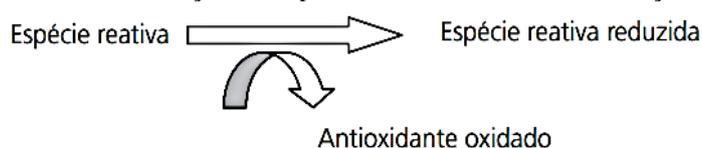
Figura 9 — Mecanismo de reação HAT para os métodos de determinação da CAT



Fonte: Adaptado de Castelo Branco; Torres (2011).

Quanto ao mecanismo de *SET*, este tem sua composição dada apenas pelos antioxidantes e os agentes oxidantes (sonda molecular, compostos carbonílicos e metais). O agente oxidante elimina um elétron do antioxidante, causando assim mudança na absorbância, tornando possível o acompanhamento espectrofotométrico da reação. Esse tipo de mecanismo considera o oxidante como ER, não sendo necessariamente um radical livre (Figura 10) (Castelo Branco; Torres, 2011).

Figura 10 — Mecanismo de reação SET para os métodos de determinação da CAT.

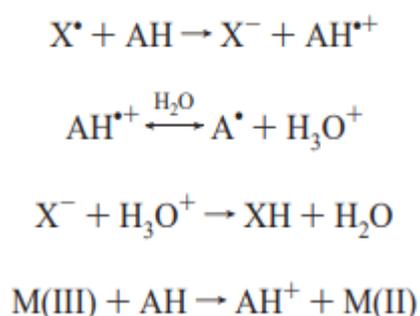


Fonte: Adaptado de Castelo Branco; Torres (2011).

³ Métodos instrumentais se baseiam em medidas das propriedades físicas do analito, como absorção ou emissão de luz, além da possível utilização de equipamentos sofisticados (que no presente estudo é o espectrofotômetro) (Passos, 2011).

Os mecanismos *SET* e *HAT* quase sempre ocorrem juntos em amostras, entretanto as reações *SET* são lentas, sendo então os cálculos da CAT com base na redução percentual do produto. Além disso, o mecanismo *SET* é capaz de reduzir qualquer composto, então os metais que podem estar presentes na amostra podem causar interferência nos resultados causando alta variabilidade e baixa reprodutibilidade nos resultados (Figura 11) (Prior; Wu; Schaich, 2005).

Figura 11 — Espécies que podem ser reduzidas por meio do mecanismo SET.



Fonte: Prior; Wu; Schaich (2005).

A presença de agentes redutores é uma complicação nos ensaios *HAT* mas em contrapartida, este independe do solvente e do pH do meio, além de acontecer geralmente em segundos ou minutos (Prior; Wu; Schaich, 2005).

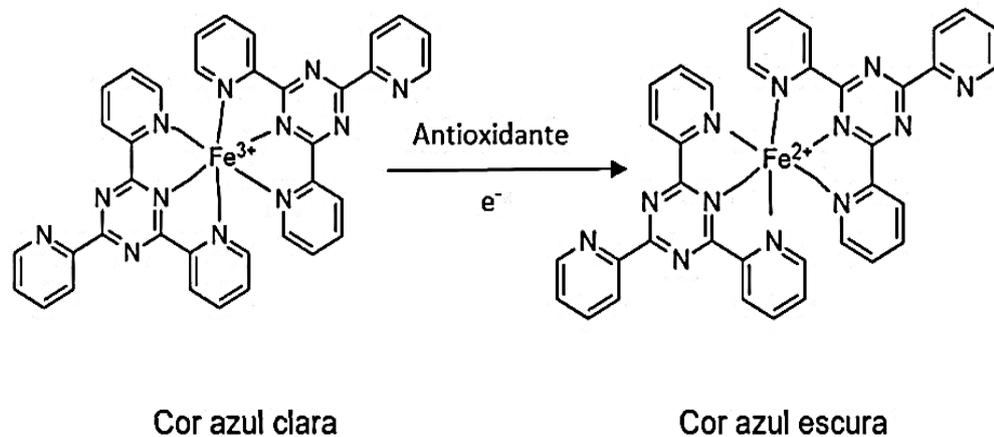
Por conseguinte, existem diversos métodos que utilizam desses mecanismos de reação para determinar a CAT *in vitro*, podendo ser citados: o FRAP, o ABTS•, o ORAC e o DPPH• (Sucupira *et al.*, 2012).

Tais métodos utilizam como princípio base, reações com mudanças visíveis de coloração que podem ser constatadas a partir da análise com o espectrofotômetro (Borges *et al.*, 2011). Entretanto, têm-se aumentado a procura e os estudos por testes cada vez mais rápidos e mais eficientes, já que a escolha do método também depende do tipo de radical livre e da sua atuação, além da grande variedade de sistemas geradores de radicais livres, sendo assim um único método geralmente insuficiente para determinar a atividade antioxidante de maneira precisa (Cotinguiba *et al.*, 2013; Alves *et al.*, 2010).

O método FRAP — *Ferric Reducing Antioxidant Power*, ou Poder Antioxidante de Redução do Ferro, é baseado na redução do complexo de Ferro Férrico Tripiridiltriazina (Fe^{+3} -TPTZ) ao complexo de Ferro Ferroso Tripiridiltriazina (Fe^{+2} -TPTZ), a partir do mecanismo *SET* em pH ácido. Quando ocorre a reação (Figura 12), a solução que era roxo claro se torna roxo intenso, e a absorvância pode ser monitorada no comprimento de onda de 595 nm, sendo

estes fatores proporcionais ao potencial antioxidante da amostra (Urrea-Victoria *et al.*, 2016; Castelo Branco; Torres, 2011).

Figura 12 — Princípio do método FRAP



Fonte: Sacramento *et al.* (2023).

Para calcular a CAT com este método, pode-se expressar o resultado em equivalente de padrão por grama de extrato ($\text{mg}\cdot\text{g}^{-1}$) a partir da equação da reta gerada pela curva padrão ou com base no cálculo do EC_{50} , que informa a concentração efetiva à qual o extrato/amostra induz metade do efeito máximo (Urrea-Victoria *et al.*, 2016).

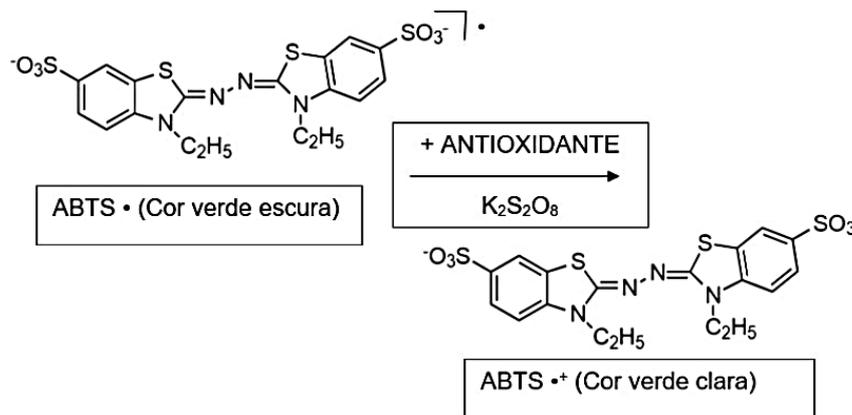
O FRAP pode ser aplicado para estudos sobre a atividade antioxidante de alimentos, bebidas e substâncias puras, porém, os estudos e análises que o adotam, utilizam volumes altos de reagentes e extratos, tornando este método extremamente inviável para amostras que são de difícil obtenção. Dessa forma é recomendável realizar este método junto a outro para correlacionar os resultados, não sendo um método relevante para determinar a atividade antioxidante fisiologicamente (Sacramento *et al.*, 2023; Urrea-Victoria *et al.*, 2016; Rufino *et al.*, 2006).

O método ABTS• — radical (2,2-azinobis (3-etilbenzotiazolina-6-ácido sulfônico)) é também conhecido como método *TEAC* — *Trolox Equivalent Antioxidant Capacity* (ou Capacidade Antioxidante em Equivalência de Trolox), quando padrão o Trolox (6-hidroxi-2,5,7,8-tetrametilcromo-2-ácido carboxílico) um análogo solúvel da vitamina E, é utilizado (Sacramento *et al.*, 2023; Castelo Branco; Torres, 2011).

Este método ocorre via mecanismo *SET* ou *HAT* e é utilizado em ensaios enzimáticos como indicador de reação e também em testes colorimétricos para estimar o potencial antioxidante de substâncias. Neste último, o radical ABTS• de coloração verde clara, reage com

o $K_2S_2O_8$ (persulfato de potássio) e forma o radical catiônico $ABTS^{\bullet+}$ de coloração verde clara/azulada (Figura 13) (Torres *et al.*, 2017).

Figura 13 — Estabilização do radical $ABTS^{\bullet}$ a partir da reação com um antioxidante e $K_2S_2O_8$ para a formação de $ABTS^{\bullet+}$.



Fonte: Sacramento *et al.* (2023).

Originalmente, este método se deu a partir da ativação da metamioglobina com H_2O_2 (peróxido de hidrogênio) na presença do $ABTS^{\bullet}$, porém houve a produção do $ABTS^{\bullet+}$ na presença ou não dos antioxidantes. Sendo assim outros antioxidantes de reação mais rápida também poderiam contribuir para a redução do radical ferrilmioglobina. Além do mais, a produção da coloração azul/verde radical do $ABTS^{\bullet}$ se dá com máximo de absorvância a 342 nm, porém as bandas máximas de absorvância do $ABTS^{\bullet+}$ mudam em diferentes solventes devido ao efeito solvatocrômico: metanol (744-745 nm), etanol (753 nm) e propanol-1 (757 nm) (Sacramento *et al.*, 2023).

Quanto a sua aplicação, pode ser realizada em soluções de substâncias puras, misturas aquosas e bebidas, a análise pode ser realizada em diferentes valores de pH e é indicado para ensaios contendo compostos coloridos (como as antocianinas), sendo considerado um método prático, rápido e de altamente sensível (Sacramento *et al.*, 2023).

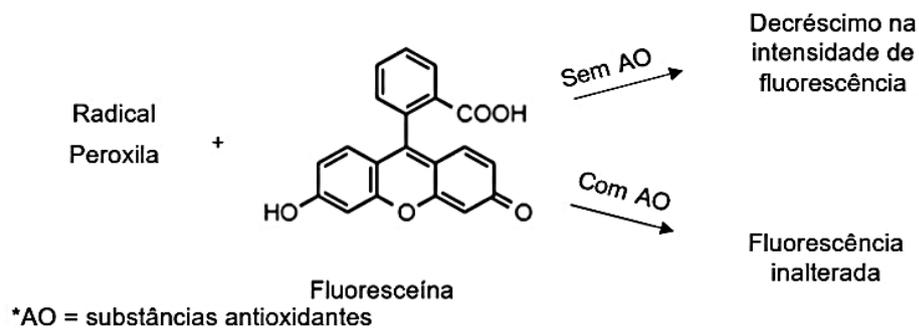
Apesar de se tratar de um radical altamente estável, a comunidade científica critica o método em relação ao fato de que não é possível avaliar compostos com potencial redox menores do que do próprio radical. Além disso, o $ABTS^{\bullet+}$ pode ser formado também a partir de reações com o dióxido de manganês e com enzimas (Sacramento *et al.*, 2023).

Quanto à capacidade antioxidante, pode-se interpretar que a absorção da solução é menor quando comparada com a absorção antes da reação com antioxidantes, sendo assim quanto menor é essa absorvância, maior é o potencial antioxidante (Torres *et al.*, 2017). Pode-

se calcular o potencial antioxidante em percentual de inibição ou pelo EC_{50} , sendo possível também expressar em μM de equivalência do antioxidante padrão utilizado por g de extrato (ou amostra) (Sacramento *et al.*, 2023; Torres *et al.*, 2017).

O método *ORAC* — *Oxygen-Radical Absorbancy Capacity*, ou Capacidade de Absorção dos Radicais de Oxigênio é baseado na capacidade de absorvância do radical de oxigênio, utilizando fluoresceína, uma proteína marcadora de fluorescência, como alvo dos radicais (Vasconcelos *et al.*, 2007).

Figura 14 — Mecanismo do Método ORAC



Fonte: Sacramento *et al.* (2023).

Verifica-se então a capacidade de inibição da oxidação dos radicais $ROO\bullet$ (peroxila), induzidos e iniciados pelo AAPH (dihidrocloreto de 2,2'-azobis [2-amidinopropano]) a partir de sua decomposição térmica, ocorrendo *via* mecanismo *HAT* (Figura 14) (Sacramento *et al.*, 2023; Castelo Branco; Torres, 2011; Vasconcelos *et al.*, 2007).

Sabe-se que as substâncias oxidantes são as responsáveis por trazer a fluorescência da fluoresceína, e que por conta disso, após a reação induzida pelo $ROO\bullet$, esta acaba sofrendo uma alteração estrutural, perdendo essa característica. Sendo assim, a capacidade antioxidante se dá através da doação de um átomo de hidrogênio aos radicais livres, evitando o decréscimo de fluorescência, tendo o resultado expresso em equivalentes de Trolox ou unidade de ORAC para representar a diferença entre a solução em branco e a que sofreu a ação dos antioxidantes (Sacramento *et al.*, 2023; Vasconcelos *et al.*, 2007).

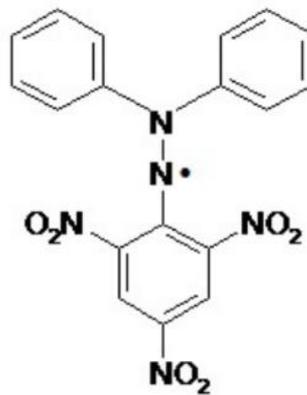
Quanto às suas desvantagens, os marcadores fluorescentes utilizados nesse método, requerem detecção por fluorímetros⁴, que podem não estar disponíveis em laboratórios de rotina. Além do mais, o tempo de análise, cerca de 1 hora, também é uma grande crítica, apesar de estar em superação por conta do desenvolvimento de métodos e ensaios de alta performance e rendimento (Prior; Wu; Schaich, 2005).

⁴ Também chamado de espectrômetro de fluorescência, é utilizado na medição da intensidade da luminescência e uma amostra (Pavoni *et al.*, 2014).

Sendo assim, destaca-se como método espectrofotométrico para a determinação da CAT de substâncias e amostras, por conta de sua rapidez, simplicidade, economia e sensibilidade, o DPPH• — 2,2-difenil-1-picril-hidrazil. Este método baseia-se na redução do radical DPPH• e é o mais utilizado atualmente (Sacramento *et al.*, 2023).

O DPPH•, apesar de ser uma espécie radicalar, é considerado estável. Essa estabilidade se dá por conta da presença, em sua estrutura química, de três anéis aromáticos que apresentam efeito de ressonância, pela presença dos três grupos nitro e de dois átomos de nitrogênio em que os elétrons se deslocam (Figura 15) (Sacramento *et al.*, 2023).

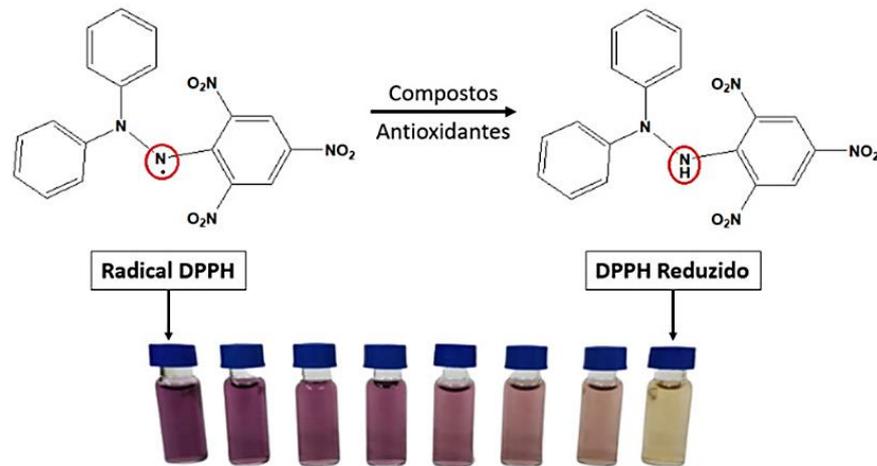
Figura 15 — Estrutura do radical livre estável DPPH•



Fonte: Oliveira (2015).

De acordo com Oliveira, Barbosa e Flores (2021), pode-se observar na imagem abaixo (Figura 16), que o radical DPPH• possui coloração roxa/violeta, porém quando reage com um antioxidante, é reduzido, formando DPPH —2,2-difenil-picril-hidrazina, tendo sua coloração violeta clara pode chegar ao amarelo, a depender da concentração dos compostos antioxidantes presentes na amostra. Além disso, após a redução, o decréscimo da absorbância pode ser monitorado na faixa de 515 a 520 nm em solução metanólica ou etanólica a partir de um espectrofotômetro UV-vis (Oliveira, 2015).

Figura 16 — Reação de redução do DPPH•



Fonte: Oliveira; Barbosa; Flores (2021).

Porém estudos realizados por Silveira *et al.*, (2018), demonstram adaptações favoráveis para estes fatores: diminuir o tempo para 15 minutos e utilizar etanol como solvente é um fator extremamente positivo, pois este confere menor toxicidade, além de não possui efeitos cumulativos no organismo humano (Pereira; Andrade, 1998).

Para a determinação da CAT utilizando o método DPPH•, utiliza-se inúmeras relações matemáticas, porém cita-se aqui as Equações 1 e 2 que foram as escolhidas para a presente pesquisa:

$$\text{Concentração } (\mu\text{M}) = \frac{\text{Abs. da amostra} - \text{Coef. linear}}{\text{Coef. angular}} \quad \text{Eq. (1)}$$

$$\text{Inibição do DPPH } (\%) = \frac{\text{Abs. do controle} - \text{Abs. da amostra}}{\text{Abs. do controle}} * 100 \quad \text{Eq. (2)}$$

Dessa forma, a CAT a partir da primeira equação é expressa em concentração equivalente (geralmente em μM) do padrão por meio da equação da reta gerada a partir da curva padrão. E, a Equação 2 expressa os resultados em percentual, sendo proporcional à capacidade de sequestrar o radical DPPH• (Melo *et al.*, 2008)

4 METODOLOGIA

De acordo com Gil (2002), a presente pesquisa caracteriza-se, de acordo com os objetivos traçados, como explicativa, valendo-se da experimentação para contribuição acerca dos fatores que determinam a descrição e detalhamento de um fenômeno. Além disso, por se tratar de uma pesquisa experimental, consiste em selecionar as variáveis que seriam capazes de influenciar um objeto de estudo, e definir as formas de controle e observação dos efeitos que a variável produz neste (Gil, 2002).

A metodologia experimental adotada, visou adaptar o método proposto por Silveira *et al.* (2018), utilizando o suco de uva tinto integral como amostra antioxidante e o ácido ascórbico como antioxidante padrão. Este método utiliza 15 min como tempo suficientemente adequado para a realização do método DPPH•, sendo mais rápido que o convencional.

Quanto à seleção de amostras, foi realizada uma busca nos supermercados da cidade de Vitória da Conquista, por sucos de uva tintos integrais que não houvessem nenhum tipo de aditivo em sua lista de ingredientes, tais como açúcares, conservantes e antioxidantes sintéticos, já que o foco deste trabalho foi utilizar amostras minimamente processadas pela indústria alimentícia, inibindo fatores que alterariam a capacidade antioxidante total deste alimento.

4.1 MATERIAIS, REAGENTES E EQUIPAMENTOS

A presente pesquisa foi realizada no laboratório de Química Analítica do IFBA – *campus* Vitória da Conquista. Foram utilizados balões volumétricos de 10, 100 e 250 mL, micropipetas de 10 a 100 µL da marca Biopet Technologies®, e de 1.000 a 10.000 µL da marca HTL Lab Solutions®, pipeta volumétrica de 25 mL, tubos de ensaio com tampa e de capacidade maior que 6 mL, espátulas e béqueres para pesagem dos reagentes, além de frascos de vidro âmbar.

Utilizou-se também o Espectrofotômetro Uv-Vis da Instrutherm® modelo UV 2000A, cubeta de quartzo de 1 cm de caminho óptico, e balança analítica. Quanto aos reagentes, o DPPH (radical 2,2-difenil-1-picril-hidrazil) da Tokyo Chemical Industry Co., Ltd., Ácido L-ascórbico (ácido 2,3-enediol-L-gulônico) da marca AlphaTec®, Álcool etílico absoluto (P.A. 99,8%) da Êxodo Científica®, além de 6 amostras de 5 marcas de suco de uva tinto integral que são descritas no quadro abaixo.

Quadro 5 — Tipos de embalagens das amostras e regiões de produção

AMOSTRA	TIPO DE EMBALAGEM	REGIÃO
A	Vidro Âmbar	Rio Grande do Sul
B e C	Vidro Âmbar	Rio Grande do Sul
D	Vidro Transparente	Vale do São Francisco
E	Vidro Transparente	Vale do São Francisco
F	Plástico Transparente	Paraná

As amostras B e C correspondem a amostras distintas da mesma marca de suco de uva tinto integral, pois foram realizados testes com a amostra B, de maneira inicial, para que fossem verificadas possíveis adaptações quanto as concentrações de ácido ascórbico para a curva padrão.

4.2 PROCEDIMENTOS EXPERIMENTAIS

4.2.1 Obtenção do espectro de absorção do suco de uva tinto integral

Para obtenção do espectro de absorção e verificação do comprimento de onda de máxima absorbância, agitou-se o frasco que contém a amostra de suco de uva tinto integral, para que haja a plena homogeneização da solução, e em seguida a mesma foi deixada em descanso por alguns minutos. Ambientou-se um béquer de 10 mL com a amostra e verteu-se uma pequena quantidade.

Pipetou-se com o auxílio da pipeta automática, 1 mL de suco de uva tinto integral e adicionou-se tal volume a um balão volumétrico de 10 mL. Em seguida completou-se o volume com água purificada por osmose reversa e homogeneizou-se a solução. Realizou-se o emparelhamento de duas cubetas de quartzo com água de osmose reversa a 500 nm e mediu-se a absorbância da solução de 190 a 700 nm, de 20 em 20 nm. Este experimento foi realizado em triplicata.

Em seguida, ambientou-se um frasco de vidro âmbar com a amostra, e transferiu-se uma pequena quantidade. Armazenou-se esta amostra por 4 dias sob refrigeração para fins comparativos.

4.2.2 Verificação da degradação de amostra de suco de uva tinto integral

Agitou-se o frasco que contém a amostra e a deixou em descanso por alguns minutos. Reservou-se 100 mL de amostra de suco de uva tinto integral em um frasco de vidro âmbar, devidamente identificado e o armazenou sob refrigeração. Em seguida, ambientou-se um béquer de 10 mL com a amostra reservada e verteu-se uma pequena quantidade.

Pipetou-se com o auxílio da pipeta automática, 1 mL da amostra e adicionou-se tal volume a um balão volumétrico de 10 mL. Em seguida completou-se o volume com água de osmose reversa e homogeneizou-se a solução.

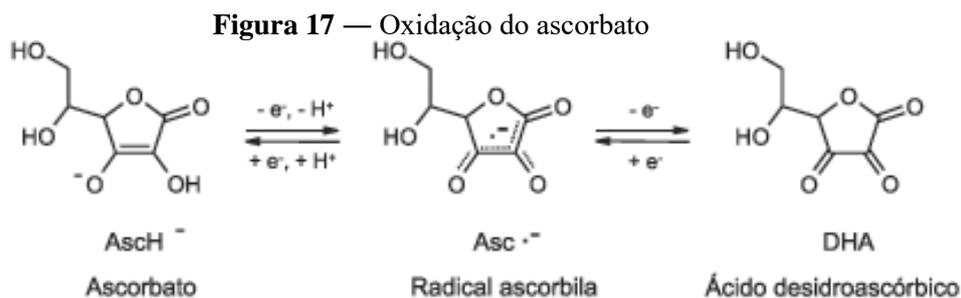
Realizou-se a medida da absorbância no comprimento de onda de máxima absorção (525 nm), utilizando cubeta de quartzo, em triplicata. Este procedimento foi realizado 5 vezes durante um período de tempo de 42 dias.

4.2.3 Determinação da capacidade antioxidante pelo método do DPPH•

Escolheu-se para determinar a capacidade antioxidante total das amostras de suco de uva tinto integral, o método DPPH• proposto por Silveira *et al.* (2018). Estes autores, buscaram a redução do tempo de reação para 15 minutos, utilizando DPPH• e curva de calibração de Trolox em meio etanólico, para avaliação de extratos de frutos da erva-mate.

Tal estudo é um comunicado técnico publicado pela Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária (Embrapa), e teve como vantagens além da redução do tempo de reação, alta reprodutibilidade, a não necessidade de diluição do extrato e a utilização de etanol como solvente, que possui menor toxicidade em relação ao metanol (Silveira *et al.*, 2018).

Entretanto, por possuir uma alta capacidade antioxidante, sendo também capaz de trazer benefícios aos sistemas biológicos, escolheu-se como antioxidante padrão na presente pesquisa, o Ácido Ascórbico (Vitamina C). Este, é um sólido branco, hidrossolúvel e que possui como forma mais biologicamente ativa, o ácido L-ascórbico (Nóbrega, 2012). De acordo com Cerqueira, Medeiros e Augusto (2007), os produtos da oxidação do ascorbato por um elétron e por dois elétrons são, respectivamente, radical ascorbila e ácido desidroascórbico (Figura 17), sendo o radical formado, relativamente não reativo.



Fonte: Cerqueira, Medeiros; Augusto (2007).

Dessa forma, substituiu-se o Trolox utilizado no estudo de Silveira *et al.* (2018), pelo Ácido Ascórbico, mantendo-se o tempo de reação (15 min), e o solvente utilizados, entendendo a capacidade antioxidante total apenas como um termo geral para expressar o quanto a amostra possui componentes semelhantes ao padrão e também o quanto é capaz de inibir a ação do radical escolhido.

4.2.3.1 Preparo de soluções

Para a solução estoque de DPPH•, preparou-se uma solução a 0,6 mM ($0,6 \cdot 10^{-3} \text{ mol.L}^{-1}$). Pesou-se em um béquer de 100 mL, 24 mg (0,024 g) deste reagente com auxílio da balança analítica, e dissolveu-se esta quantidade em álcool etílico absoluto. Transferiu-se para um balão volumétrico de 100 mL completando o volume com o mesmo solvente, e realizou-se a homogeneização. Em seguida, transferiu-se esta solução para um frasco de vidro âmbar, devidamente identificado. Esta solução pode ser armazenada sob refrigeração por até uma semana, de acordo com Silveira *et al.* (2018), porém neste caso, foi utilizada no mesmo dia.

Em relação a solução de uso de DPPH•, realizou-se uma diluição na proporção 1:10 a partir da solução estoque de DPPH•. A preparou adicionando 25 mL da solução estoque em um balão volumétrico de 250 mL, com o auxílio de uma pipeta volumétrica. Completou-se o volume com álcool etílico absoluto e realizou-se a homogeneização. Em seguida, transferiu-se a solução para um frasco de vidro âmbar, devidamente identificado. Tal solução foi preparada e usada apenas no dia da análise, como recomendado por Silveira *et al.* (2018).

Já para a solução padrão de Ácido Ascórbico 2 mM ($2 \cdot 10^{-3} \text{ mol.L}^{-1}$), pesou-se em balança analítica 35,22 mg (0,0352 g) de Ácido Ascórbico e dissolveu-se esta massa em álcool etílico absoluto. Transferiu-se para um balão volumétrico de 100 mL, completou-se o volume com o mesmo solvente e homogeneizou-se. Em seguida, transferiu-se para um frasco de vidro âmbar devidamente identificado. Esta solução foi preparada e utilizada apenas no dia da análise.

4.2.3.2 Curva padrão de ácido ascórbico

Preparou-se as soluções padrão a partir da diluição da solução estoque de Ácido Ascórbico (2 mM), de 50 μM a 1.000 μM , conforme mostra a Tabela 1.

Tabela 1 — Preparo das soluções para a curva padrão de Ácido Ascórbico

Tubo de ensaio	Solução-Padrão de Ácido Ascórbico (μL)	Álcool etílico absoluto (μL)	Concentração (μM)
1	25	975	50
2	50	950	100
3	100	900	200
4	200	800	400
5	300	700	600
6	500	500	1000
7	600	400	1200

A determinação da curva padrão foi realizada em ambiente escuro, transferindo uma alíquota de 150 μL de cada concentração para tubos de ensaio. Em seguida, adicionou-se 5,850 mL da solução de uso de DPPH•. Após homogeneização, a mistura foi mantida em repouso por 15 minutos. Após isso, a leitura da absorbância foi realizada a 515 nm e o álcool etílico foi usado como branco.

4.2.3.3 Determinação da capacidade antioxidante total (CAT)

Transferiu-se 150 μL do suco de uva integral para tubos de ensaio e em seguida adicionou-se 5,850 mL da solução de uso de DPPH• e homogeneizou-se. Após 15 minutos obteve-se a absorbância das amostras em 515 nm. A reação foi desenvolvida em triplicata para cada amostra, utilizando o álcool etílico absoluto como branco. Um tubo foi preparado com álcool etílico em substituição ao suco de uva integral para controle negativo. A determinação da capacidade antioxidante total (CAT) foi realizada em ambiente escuro.

5 RESULTADOS E DISCUSSÕES

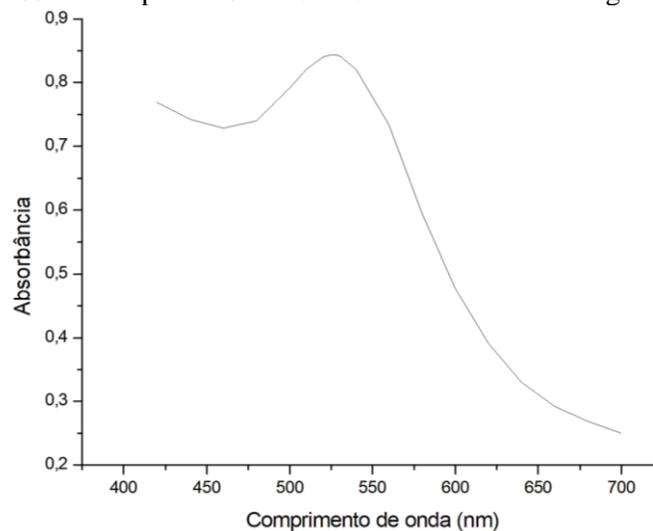
5.1 ANÁLISE ESPECTROFOTOMÉTRICA DO SUCO DE UVA TINTO INTEGRAL

A análise espectrofotométrica do suco de uva tinto integral, realizada na faixa do Ultravioleta-visível (UV-Vis), revelou, através da absorbância medida em comprimentos de onda selecionados, a presença de um pico elevado na região entre 520 e 540 nm. Vale ressaltar que os valores extremamente altos observados no início da medição, entre 190 e 400 nm, foram desconsiderados devido à proximidade com os limites de detecção do espectrofotômetro, estando abaixo da faixa visível do espectro.

Sendo assim, realizou-se medidas no ponto médio entre 520 e 540 nm, ou seja, a 530 nm, e ao perceber um valor ainda mais acentuado, mediu-se em 525 nm, observando-se um resultado ainda maior. Após 4 dias, realizou-se novamente as mesmas medidas, para verificação de possíveis alterações nos valores obtidos em relação à amostra, e confirmou-se o padrão obtido no primeiro dia de análise.

Em seguida, realizou-se o cálculo da média aritmética da absorbância e plotou-se o gráfico referente ao espectro desta amostra (Gráfico 1), desconsiderando as medidas inferiores a 400 nm, com o auxílio do software Origin. Constatou-se então a partir do espectrofotometria UV-vis da solução (1:10) de suco de uva tinto integral, que o comprimento de onda (λ) de máxima absorção se deu em 525 nm.

Gráfico 1 — Espectro UV-vis do suco de uva tinto integral



Fonte: Autoria própria.

Considerando que as antocianinas presentes na amostra, geralmente apresentam cores que variam do azul, roxo até o vermelho, entende-se que o comprimento de máxima absorção

obtido experimentalmente é condizente com o esperado, já que nesta faixa, as cores verde e amarela são absorvidas para que se enxergue o violeta (cor da amostra) a olho nu, de acordo com o espectro de luz visível (Martins; Sucupira; Suarez, 2015).

Além disso, as antocianinas possuem alta absorção entre 520 e 560 nm (Kato; Tonhi; Clemente, 2012; Lopes *et al* 2007). Ainda, observa-se por meio do espectro obtido sinais elevados entre 420 e 520 nm, devido as possíveis reações de copigmentação de antocianinas quando em reação com compostos orgânicos como ácidos fenólicos e flavonoides durante o processamento das uvas (Junges, 2023).

Sendo assim, entende-se que o espectro obtido corresponde aos compostos fenólicos presentes no suco de uva tinto integral, principalmente devido as antocianinas como cianidina 3,5-diglicosídeo, malvidina 3-O-glicosídeo, malvidina 3,5-diglicosídeo, pelargonidina 3,5-diglicosídeo e peonidina 3-O-glicosídeo (Junges, 2023; Malacrida; Motta, 2006).

5.2 VERIFICAÇÃO DA DEGRADAÇÃO DA AMOSTRA DE SUCO DE UVA TINTO INTEGRAL

O monitoramento da absorbância do suco de uva tinto integral, a 525 nm, pelo período de 42 dias, permitiu observar a estabilidade da amostra com o passar dos dias, como mostram os resultados da Tabela 2.

Tabela 2 — Degradação da amostra de suco de uva tinto integral

t (dias)	Absorbância ($\lambda = 525$ nm)			Absorbância média \pm Desvio padrão
0	0,818	0,821	0,819	0,819 \pm 0,002
3	0,803	0,803	0,797	0,801 \pm 0,004
5	0,853	0,844	0,836	0,844 \pm 0,009
38	0,855	0,859	0,855	0,856 \pm 0,003
42	0,744	0,744	0,742	0,743 \pm 0,001

Fonte: Autoria própria

Observa-se então a partir da tabela acima, que a absorbância medida no comprimento de onda de máxima absorção desta amostra ($\lambda = 525$ nm), não variou significativamente durante o período de 38 dias, sendo possível notar um decréscimo mais significativo de absorbância apenas ao final de 42 dias. Os fabricantes de suco de uva tinto integral, informam nas respectivas embalagens de seus produtos, a indicação de consumo em até 3 dias após a abertura

dos frascos, porém, com o teste de degradação, notou-se que, mesmo após esse período, a absorvância da amostra a 525 nm se mantém praticamente constante, sendo esta uma evidência de que a concentração das espécies absorventes, tais como as antocianinas, não se alteram consideravelmente até o 38º dia, quando esta é armazenada em frasco âmbar, fechado, sob refrigeração.

Entretanto, se faz relevante ressaltar que as amostras escolhidas para a realização da análise espectrofotométrica da região do UV-vis e para a avaliação de possível degradação estavam armazenadas inicialmente em frascos de vidro pelo fabricante. Estas embalagens, de acordo com a literatura, trazem maior preservação para os compostos fenólicos presentes na bebida e é o mais indicado para a conservação (Nogueira *et al.*, 2023; Jaime; Bócoli; Faria, 2018; Rizzon; Meneguzzo, 2007).

Sendo assim, armazenar adequadamente em frasco de vidro âmbar é essencial para avaliação da degradação, já que o controle de temperatura e de exposição à luz conservam a bebida. Os resultados de absorvâncias verificadas são muito próximos às absorvâncias medidas para a obtenção do espectro da amostra, revelando coerência entre as medidas. Pode-se observar também que no intervalo de 38 a 42 dias, ocorreu um decaimento mais acentuado na absorvância, todavia, os experimentos seguintes não foram realizados com amostras cujas embalagens estivessem abertas há mais de 3 dias.

De acordo com Burin *et al.*, (2010) e Falcão *et al.*, (2007) algumas condições são capazes de alterar a estrutura de antocianinas e demais compostos fenólicos, porém este experimento revela que o suco de uva tinto integral possui baixa taxa de degradação quando armazenado adequadamente, sendo estes fatores condizentes com estudos de degradação química.

Entretanto salienta-se que há a possibilidade de proliferação de microorganismos na amostra que fora armazenada e analisada, e não foram realizados testes nos quais indicam resultados acerca das condições de consumo.

5.3 DETERMINAÇÃO DA CAPACIDADE ANTIOXIDANTE TOTAL (CAT)

A determinação da CAT foi realizada a partir da curva padrão de Ácido Ascórbico, e com isso, percebeu-se de maneira visual e espectrofotométrica os indícios de ocorrência de reação. A Figura 18 revela a coloração do tubo de controle negativo (primeiro tubo da esquerda para direita) e as colorações de cada solução após o tempo de 15 minutos de reação.

Figura 18 — Tubo de controle negativo e as soluções após a reação do Ácido Ascórbico com o DPPH•



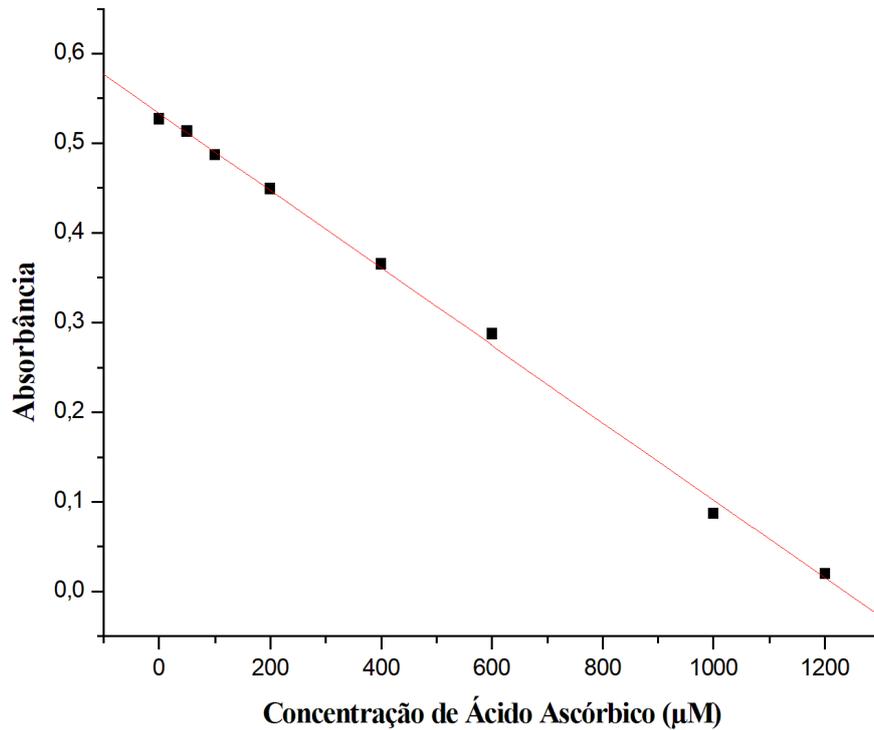
Fonte: Autoria própria

Notou-se dessa forma que quanto mais concentrada a solução de ácido ascórbico, mais esta se tornou amarelada, tendo maior redução quando comparada ao tubo de controle negativo, realizando a transição de cores notada por Oliveira; Barbosa; Flores (2021). As absorvâncias medidas após as reações de Ácido Ascórbico com o DPPH• podem ser observadas na Tabela 3 e o tubo de concentração 0 μM refere-se ao tubo de controle negativo.

Tabela 3 — Absorvâncias dos padrões de Ácido Ascórbico com o DPPH•

Ácido Ascórbico (μM)	Absorvância ($\lambda = 515 \text{ nm}$)
0	0,527
50	0,513
100	0,487
200	0,449
400	0,365
600	0,287
1000	0,087
1200	0,020

Portanto, a partir da tabela acima, com o auxílio do Software Origin, plotou-se o gráfico referente à curva padrão de Ácido Ascórbico (Gráfico 2).

Gráfico 2 — Curva Padrão de Ácido Ascórbico

Fonte: Autoria própria

Observa-se, portanto, também de forma instrumental, que quanto mais concentrada a solução de Ácido Ascórbico (AA), mais houve a redução do DPPH•, devido ao decaimento da absorbância em 515 nm. A partir da equação da reta gerada, e das absorbâncias medidas das amostras de suco de uva tinto integral, foram calculadas as Capacidades Antioxidantes Totais (CATs) das mesmas (Tabela 4).

Realizou-se os cálculos em percentual de inibição do radical DPPH• a partir da relação matemática expressa na Equação 2, e se realizou os cálculos referente a CAT de cada amostra em µM de AA relacionando a absorbância (y) e a concentração do analito (x) sendo os valores encontrados em equivalente de Ácido Ascórbico de acordo com a relação abaixo (Equação 3):

$$\text{Absorbância} = -0,0004 \cdot \text{Concentração} + 0,5334 \quad \text{Eq. (3)}$$

Tabela 4 — Determinação da Capacidade Antioxidante Total

Amostra	Absorbância			CAT (μM de AA)			Média CAT ⁵ (μM de AA)	Inibição de DPPH• (%)			Média CAT Inibição de DPPH• (%)
	Réplicas							Réplicas			
	I	II	III	I	II	III					
A	0,136	0,140	0,136	993,5	983,5	993,5	990 \pm 6	74,2	73,4	74,2	73,9 \pm 0,4
B	0,207	0,203	0,224	816	826	773,5	805 \pm 28	60,7	61,5	57,5	59,9 \pm 2,1
C	0,232	0,214	0,222	753,5	798,5	778,5	777 \pm 22	56,0	59,4	57,9	57,8 \pm 1,7
D	0,311	0,259	0,259	556	686	686	643 \pm 75	44,4	50,9	50,9	48,7 \pm 3,7
E	0,269	0,313	0,345	661	551	471	561 \pm 65	49,0	40,6	34,5	41,4 \pm 7,2
F	0,393	0,432	0,351	351	253,5	456	354 \pm 101	25,4	18,0	33,4	25,6 \pm 7,7

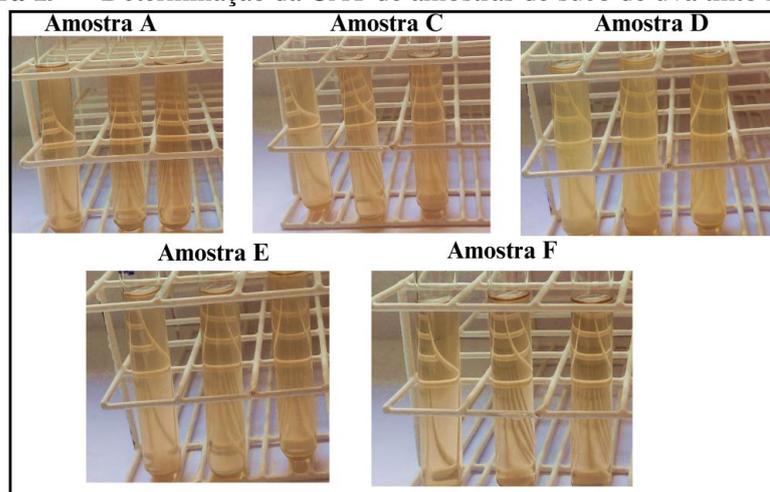
Fonte: Autoria própria

As amostras B e C são da mesma marca, e as demais amostras (A, D, E e F) correspondem a marcas distintas. Analisando os resultados obtidos em μM de AA e em percentual de inibição de DPPH•, percebe-se que a amostra A possui maior CAT entre as analisadas. Já as amostras B, C e D, apresentam valores de CAT próximos entre si, correspondendo a valores medianos quando comparadas as demais. E as amostras E e F apresentaram os menores valores de CAT.

Pode-se observar, a partir da Figura 19, a coloração das soluções após a reação de cada amostra com o DPPH•. Não foram realizados registros fotográficos com a amostra B, pois como informado na metodologia do presente trabalho, tal teste experimental foi realizado de maneira inicial dias antes.

⁵ Os resultados de média de CAT em μM de AA e em inibição de DDPH foram apresentados levando em consideração a dispersão dos dados, sendo expressos os respectivos desvios padrão para cada amostra.

Figura 19 — Determinação da CAT de amostras de suco de uva tinto integral



Fonte: Autoria própria

Por meio da visualização da imagem acima, não são visíveis mudanças nítidas entre as amostras após a reação que pudessem ser realizadas comparações entre as CATs assim foi como foi perceptível na curva padrão de ácido ascórbico. Além do mais, as colorações das amostras, A, C, D, E e F após a reação com DPPH•, são bem próximas as registradas nos tubos de ensaio referentes as maiores concentrações de ácido ascórbico para a curva padrão (Figura 18), já que se tornaram amareladas.

Nenhuma das amostras informa a espécie/variedade e safra produtora de uva utilizada na fabricação do suco, porém esta informação é um fator que diferencia os sucos em relação a CAT. Como explicitado pela Portaria nº 346, de 1º de julho de 2021, do Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento, uma marca só pode trazer em sua embalagem/rótulo esta informação se a constituição deste suco for pelo menos 75% de tal espécie de uva.

Entende-se assim, que a falta dessa informação é válida pelas normas vigentes, porém, causa prejuízo quanto ao conhecimento do tipo de uva que compõe a bebida. Entretanto, como explicitado por Jaime, Bócoli e Faria (2018) e por Nogueira *et al.* (2023), as embalagens as quais contém as bebidas disponibilizadas no atual comércio podem trazer benefícios e/ou malefícios quanto a conservação de diversos compostos, inclusive aos antioxidantes. Observa-se então que a diferença entre as CATs pode estar relacionada também ao tipo de recipiente usado para armazenamento.

Como explicitado por Rizzon e Meneguzzo (2007), é preferível que os sucos de uva integrais, tintos ou não, sejam armazenados em frascos de vidro para melhor conservação da bebida. As amostras A, B, C, D e E, seguem esta recomendação. Entretanto, a amostra A, que possui a maior CAT, é correspondente a uma marca que optou por armazenar a sua bebida em frasco de vidro âmbar e por um rótulo de plástico não transparente que cobre toda a garrafa

impedindo de forma mais eficaz a passagem de luz para o suco, o que pode estar associada à maior conservação para as antocianinas e compostos fenólicos presentes (Figura 19).

Figura 20 — Embalagem da amostra A.



Fonte: Magazine Luiza (2023)

Também utilizando frasco de vidro âmbar para armazenamento, as amostras B e C, possuem valores de CAT muito próximos entre si, salientando a importância da escolha da embalagem pelo fabricante (Figura 20).

Figura 21 — Embalagem das amostras B e C.



Fonte: Real Distribuidora (2023)

As três amostras citadas, possuem desvios padrão baixos quando comparados aos das demais amostras, demonstrando um pouco mais de confiabilidade dos dados obtidos e menos variação nas medidas. Quanto as amostras D e E, percebe-se desvios padrão mais elevados. Estas amostras, foram armazenadas em frascos de vidro transparente, fator que favorece a degradação dos compostos fenólicos a partir da exposição direta a luz. Na Figura 21, pode-se observar o frasco da embalagem D a esquerda e da embalagem E a direita.

Figura 22 — Embalagens das amostras D e E



Fonte: Magazine Luiza (2023)

A amostra F, possui a menor CAT entre as seis amostras analisadas. Além de estar em frasco transparente, o mesmo é de plástico, o que pode, estar atrelado à sua menor capacidade antioxidante total, já que este material não oferece inércia química, sendo passível de reagir facilmente com outras substâncias e materiais podendo mudar as suas composições (Figura 22).

Figura 23 — Embalagem da amostra F



Fonte: Magazine Luiza (2023)

Tal amostra, possui o maior desvio padrão dentre os observados, pois a variação constante das absorbâncias medidas pelo Espectrofotômetro foram fatores prejudiciais (sendo fatores observados também mais acentuadamente em relação as amostras D e E). Ademais, quanto ao armazenamento nos supermercados, foi notado que todas as amostras são armazenadas na vertical e não na horizontal, indo diretamente contra ao recomendado por Rizzon e Meneguzzo (2007).

Outro fator interessante de ser analisado é a região na qual o suco de uva tinto integral fora produzido, já que as amostras D e E foram fabricadas na região do Vale São Francisco, e as demais, no sul do Brasil, sendo observadas as diferenças nas CATs determinadas pelo presente trabalho. Este fator está de acordo com estudos realizados Dutra *et al.* (2021) que

notaram que a região de plantio e as etapas de processamento influenciam a composição química dos sucos.

Natividade (2014), informa que os sucos de uva produzidos no Vale São Francisco podem possuir uma considerável CAT sendo consequência das condições climáticas, técnicas de cultivo e de processamento particulares dessa região, que favorecem a síntese e a produção de compostos fenólicos. Entretanto, a partir dos resultados obtidos na presente pesquisa, nota-se que as amostras produzidas nesta região possuíram valores de CAT medianos quando comparadas as demais amostras que foram produzidas no Rio Grande do Sul.

Ademais, Almeida, Ribeiro e Costa (2022), realizaram estudos acerca da capacidade antioxidante total do suco de uva tinto integral, e afirmam que ele reduz 56% em porcentagem de redução de DPPH• em relação ao padrão rutina. Destaca-se que a amostra C possui aparentemente o mesmo percentual de inibição de DPPH• em relação ao padrão ácido ascórbico encontrado por Almeida, Ribeiro e Costa (2022), e que as amostras B e D possuem valores próximos ao relatado pelos autores. A amostra F, continua sendo a com menor CAT, todavia a amostra A persiste em ser a amostra que possui os maiores valores, sendo até consideravelmente maior do que o encontrado na literatura atual.

É difícil realizar comparações entre as capacidades antioxidantes disponíveis em estudos já realizados e as encontradas na presente pesquisa, já que é notório a falta de um método padrão, não existindo uma avaliação universal para a CAT utilizando o método DPPH• (Oliveira, 2015; Scherer; Godoy, 2009). A comparação realizada com o estudo de Almeida, Ribeiro e Costa (2022), se fez importante por ser o método disponível mais próximo daquilo que foi realizado na presente pesquisa, porém por utilizarem um antioxidante padrão diferente, acaba sendo fatigante e complexas comparações mais precisas.

Porém tais autores, não informam em sua pesquisa, o tipo de uva o qual compõe as amostras utilizadas na análise, nem dados quanto as embalagens delas, porém informam que as amostras estavam dentro do prazo de validade e que foram escolhidas em supermercados locais de uma cidade no interior do Maranhão.

Destaca-se também no presente estudo, a relevância para estudos químicos informações acerca do tipo de uva o qual foi utilizado na fabricação suco. É importante salientar a importância do armazenamento e da embalagem apropriada para o suco de uva tinto integral, já que exposição desta bebida a fatores degradativos de antocianinas podem alterar de maneira acentuada as propriedades organolépticas deste alimento, e a sua principal promessa: a capacidade antioxidante.

6 CONCLUSÕES

Os alimentos antioxidantes são importantes para a construção de uma alimentação saudável e balanceada, já que possuem a capacidade de inibir reações de oxidação excessivas, prevenindo o organismo de sofrer danos à saúde, realizando a proteção relacionada ao estresse oxidativo. Diversos alimentos de origem vegetal possuem capacidade antioxidante significativa, porém, com o aumento do consumo de alimentos industrializados, o suco de uva tinto integral destaca-se como sendo uma excelente fonte de compostos antioxidantes.

Verificou-se o comprimento de onda de máxima absorção de 525 nm para o suco de uva tinto integral, e observou-se a insignificante mudança espectrofotométrica em seus compostos colorimétricos em até 38 dias de armazenamento em frasco de vidro âmbar sob refrigeração.

Entre as amostras de suco de uva tinto integral analisadas, a amostra A destaca-se como sendo a que possui maior valor de CAT em ambas as unidades de medidas adotadas. As amostras B, C que são da mesma marca, apresentam valores próximos entre si, e mais elevados. As amostras D e E possuem valores medianos, e a amostra F possui o pior resultado dentre as analisadas.

Enfatiza-se a importância da escolha mais coerente e adequada para os frascos de armazenamento de sucos de uva tinto integral. Notórias foram as diferenças das capacidades antioxidantes totais das amostras quando comparadas as suas embalagens, sendo as amostras armazenadas em frascos de vidro âmbar com melhores resultados, e as armazenadas em frascos de vidro medianos e em plástico transparentes, os piores.

Por fim, destaca-se neste trabalho, a importância de existir um método padrão para determinação da capacidade antioxidante com DPPH•, com as devidas unidades de medidas e procedimentos experimentais. Mesmo sendo um método considerado simples, fácil e econômico, se faz desvantajoso quando se observa as inúmeras maneiras de interpretação devido as suas várias formas de realizar o experimento e expressar os resultados, o que dificulta as análises comparativas.

REFERÊNCIAS

- ABE, L. T. *et al.* Compostos fenólicos e capacidade antioxidante de cultivares de uvas *Vitis labrusca* L. e *Vitis vinifera* L. **Food Science and Technology**, v. 27, p. 394-400, 2007.
- ACHKAR, M. T. *et al.* Propriedade antioxidante de compostos fenólicos: importância na dieta e na conservação de alimentos. **Revista da Universidade Vale do Rio Verde**, v. 11, n. 2, p. 398-406, 2013.
- AL-KHAYRI, J. M. *et al.* **Flavonoids as potential anti-inflammatory molecules: A review. Molecules**, v. 27, n. 9, p. 2901, 2022.
- ALMEIDA, T. R. S.; RIBEIRO, A. B.; COSTA, J. de R. M. Avaliação do potencial antioxidante de sucos de uva integral de diferentes tipos de uvas **Brazilian Journal of Development**, [S. l.], v. 8, n. 5, p. 40132–40138, 2022.
- ALVES, C. Q. *et al.* Métodos para determinação de atividade antioxidante in vitro em substratos orgânicos. **Química Nova**, v. 33, p. 2202-2210, 2010.
- ANGELO, P. M.; JORGE, N. Compostos fenólicos em alimentos—Uma breve revisão. **Revista do Instituto Adolfo Lutz**, v. 66, n. 1, p. 1-9, 2007.
- ARNOSO, B. J. M.; COSTA, G. F.; SCHMIDT, B. Biodisponibilidade e classificação de compostos fenólicos. **Nutrição Brasil**, v. 18, n. 1, p. 39-48, 2019.
- BAILEY, A. E. *et al.* **Industrial oil and fat products**. 1951.
- BARROSO, E. G.; ARAÚJO, C. W.; MENDONÇA, C. E. A. Os benefícios dos flavonoides do vinho tinto e do suco de uva tinto para a prevenção de doenças cardiovasculares: uma revisão de literatura. **Revista Eletrônica da Estácio Recife**, v. 8, n. 1, 2022.
- BIANCHI, M. L. P.; ANTUNES, L. M. G. Radicais livres e os principais antioxidantes da dieta. **Revista de nutrição**, v. 12, p. 123-130, 1999.
- BORGES, L. L. *et al.* **Uma abordagem sobre métodos analíticos para determinação da atividade antioxidante em produtos naturais**. 2011.
- BOSCO, S. M. D. **A relação existente entre a ingestão de suco de uva e a variação dos níveis de colesterol e pressão arterial sistêmica em idosos**. Dissertação (Dissertação em Gerontologia Biomédica). Pontifícia Universidade Católica do Rio Grande do Sul. Porto Alegre, 2006.
- BRASIL. **Guia alimentar para a população brasileira**. 2. ed. Brasília: Ministério da Saúde, 2014.
- BRASIL. **Instrução Normativa nº 14, de 8 de fevereiro de 2018**. Brasília, DF: Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento, 2023.

BRASIL. **Instrução Normativa nº 211, de 1 de março de 2023**. Brasília, DF: Agência Nacional de Vigilância Sanitária, 2023.

BRASIL. **Portaria nº 346, de 1º de julho de 2021**. Brasília, DF: Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento, 2021.

BURIN, V. M. et al. Colour, phenolic content and antioxidant activity of grape juice. **Food science and technology**, v. 30, p. 1027-1032, 2010.

CASTELO-BRANCO, V.N.; TORRES, A. G. Capacidade antioxidante total de óleos vegetais comestíveis: determinantes químicos e sua relação com a qualidade dos óleos. **Revista de Nutrição**, v. 24, p. 173-187, 2011.

COTINGUIBA, G. G. *et al.* Método de avaliação da defesa antioxidante: uma revisão de literatura. **Journal of Health Sciences**, v. 15, n. 3, 2013.

DEL RÉ, P. V.; JORGE, N. Especiarias como antioxidantes naturais: aplicações em alimentos e implicação na saúde. **Revista brasileira de plantas medicinais**, v. 14, n. 2, p. 389-399, 2012.

DUTRA, M. C. P. *et al.* Whole, concentrated and reconstituted grape juice: Impact of processes on phenolic composition, “foxy” aromas, organic acids, sugars and antioxidant capacity. **Food Chemistry**, v. 343, p. 128399, 2021.

FALCÃO, A. P. et al. Índice de polifenóis, antocianinas totais e atividade antioxidante de um sistema modelo de geleia de uvas. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v. 27, n. 3, p. 637–642, set. 2007

GIL, A. A. *et al.* **Como elaborar projetos de pesquisa**. 4. ed. São Paulo: Atlas, 2002.

GULER, A. Effects of different maceration techniques on the colour, polyphenols and antioxidant capacity of grape juice. **Food Chemistry**, v. 404, p. 134603, 2023.

HALLIWELL, B.; GUTTERIDGE, J. MC. **Free radicals in biology and medicine**. Oxford university press, USA, 2015.

IBGE. **Produção de Uva no Brasil**. Brasília, DF. 2023.

IMBROINISE, R. C.R. **Avaliação do potencial antioxidante dos extratos e sistemas carreadores a partir de variedades de vitis vinífera**. Dissertação (Mestrado em Biotecnologia) - Universidade Federal Da Bahia. 2019.

JAIME, S. B. M.; BÓCOLI, P. F. J.; DE FARIA, T. B. **Barreira à luz de embalagens de vidro**. **Boletim de Tecnologia e Desenvolvimento de Embalagens**, v. 30, n. 2, 2018.

JUNGES, C. H. **novas metodologias analíticas na autenticação de sucos de uva integral orgânicos empregando dados de técnicas de espectrometria molecular e ferramentas quimiométricas**. Tese (Doutorado em Química) - Universidade Federal Do Rio Grande Do Sul. Porto Alegre, 2023

KATO, C. G.; TONHI, C. D.; CLEMENTE, E. Antocianinas de uvas (*Vitis vinífera* L.) produzidas em sistema convencional. **Revista Brasileira de Tecnologia Agroindustrial**, v. 6, n. 2, 2012.

LIMA, M. S. *et al.* Phenolic compounds, organic acids and antioxidant activity of grape juices produced from new Brazilian varieties planted in the Northeast Region of Brazil. **Food chemistry**, v. 161, p. 94-103, 2014.

LOPES, T. *et al.* Antocianinas: uma breve revisão das características estruturais e da estabilidade. **Current Agricultural Science and Technology**, v. 13, n. 3, 2007.

MAGAZINE LUIZA. Franca, SP: [s.e.], 2023. Disponível em: <https://www.magazineluiza.com.br/suco/mercado/s/me/sucu/>. Acesso em: 7 dez. 2023.

MALACRIDA, C. R.; MOTTA, S. da. Compostos fenólicos totais e antocianinas em suco de uva. **Food Science and Technology**, v. 25, p. 659-664, 2005

MALACRIDA, C. R.; MOTTA, S. da. Antocianinas em suco de uva: composição e estabilidade. **Boletim do Centro de Pesquisa e Processamento de Alimentos**, v. 24, n. 1, p. 59-82, 2006.

MARTINS, V. P; GOBBI, D. L.; LINCK, M. R. **Reconhecimento de padrões de qualidade do suco de uva tinto integral por análise de componentes principais (pca)**. Anais do IX Simpósio de alimentos, Passo Fundo, v. 9, p. 1-6, 2015.

MARTINS, G. B.C; SUCUPIRA, R. R.; SUAREZ, P. A.Z. A Química e as Cores. **Revista Virtual de Química**, v. 7, n. 4, p. 1508-1534, 2015.

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

MENDES, A. P. A.; PEREIRA, R. C; ANGELIS-PEREIRA, M. C. **Estresse oxidativo e sistemas antioxidantes: conceitos fundamentais sob os aspectos da nutrição e da ciência dos alimentos**. In: Tecnologia De Alimentos: Tópicos Físicos, Químicos e Biológicos. Editora Científica São Paulo, 2020. p. 296-312.

NATIVIDADE, M. M. P. **Potencial de sucos integrais de uvas produzidas no Vale do São Francisco, Brasil: caracterização físico-química, atividade antioxidante e avaliação sensorial**. 2014.

NÓBREGA, E. M. M. A. **Secagem do resíduo de acerola (*Malphigia emarginata* DC): estudo do processo e avaliação do impacto sobre o produto final**. 2012. 134 f. Dissertação (Mestrado em Pesquisa e Desenvolvimento de Tecnologias Regionais) - Universidade Federal do Rio Grande do Norte. Natal, 2012.

NOGUEIRA, B. V. *et al.* Embalagens de vidro e a vida de prateleira de alimentos. **Revista Científica SENAI-SP-Educação, Tecnologia e Inovação**, v. 2, n. 1, p. 57-75, 2023.

OLIVEIRA, M. C. C.; BARBOSA, R. C. F.; FLORES, D. C. Atividade antioxidante de frutas cítricas: adaptação do Método do DPPH para experimentação em sala de aula. **Revista Química Nova na Escola**, v. 43, n. 4, p. 401-405, 2021.

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**, v. 17, p. 36-44, 2015.

PASSOS, E. A. **Métodos Instrumentais de Análise**. Universidade Federal de Sergipe, São Cristóvão, 2011.

PAVONI, J. F. *et al.* Uma montagem experimental para a medida de fluorescência. **Revista Brasileira de Ensino de Física**, v. 36, p. 4501, 2014.

PELLERANO, J. A. **Embalados e prontos para comer: relações de consumo e incorporação de alimentos industrializados**. Dissertação (Mestrado em Ciências Sociais) - Pontifícia Universidade Católica de São Paulo, São Paulo, 2014.

PEREIRA, P.A. de P.; ANDRADE, J. B. de. Fontes, reatividade e quantificação de metanol e etanol na atmosfera. **Química Nova**, v. 21, p. 744-754, 1998.

PEREIRA, G. E.; RIZZON, L. A.; MANFROI, V. **A história do vinho no Brasil**. 2022.

PEREIRA, A. L. F.; VIDAL, T. F.; CONSTANT, P. B. L. Antioxidantes alimentares: importância química e biológica. **Nutrire Rev. Soc. Bras. Aliment. Nutr**, 2009.

PONTES, P.R.B. *et al.* Atributos sensoriais e aceitação de sucos de uva comerciais. **Food Science and Technology**, v. 30, p. 313-318, 2010.

PREVEDELLO, M. T.; COMACHIO, G. Antioxidantes e sua relação com os radicais livres, e Doenças Crônicas Não Transmissíveis: uma revisão de literatura. **Brazilian Journal of Development**, v. 7, n. 6, p. 55244-55285, 2021.

PRIOR, R. L.; WU, X.; SCHAICH, K. Standardized methods for the determination of antioxidant capacity and phenolics in foods and dietary supplements. **Journal of agricultural and food chemistry**, v. 53, n. 10, p. 4290-4302, 2005.

REAL DISTRIBUIDORA. **Suco de Fruta**. Disponível em: <https://www.realdist.com.br/categoria/17934277.html>. Acesso em: 2 jan. 2024.

RIZZON, L. A.; LINK, M. Composição do suco de uva caseiro de diferentes cultivares. **Ciência Rural**, v. 36, p. 689-692, 2006.

RIZZON, L. A.; MENEGUZZO, J. **Suco de uva - Coleção Agroindústria Familiar**. Brasília, Embrapa Informação Tecnológica, 2007.

ROMANI, V. P.; MARTINS, V. G.; SOARES, L. A. S. Oxidação lipídica e compostos fenólicos como antioxidantes em embalagens ativas para alimentos. **VETOR - Revista de Ciências Exatas e Engenharias**, [S. l.], v. 27, n. 1, p. 38-56, 2020.

RUANI, A. P. **Espécies reativas de nitrogênio e oxigênio: determinação de captura por polifenóis e efeitos sobre o DNA utilizando eletroforese capilar convencional, no formato**

microchip e como ferramenta microfluídica em um inovador modo de micro análise por injeção em fluxo. Tese (Doutorado em Química) Universidade Federal de Santa Catarina. Florianópolis, 2019.

RUFINO, M. D. S. M. *et al.* **Metodologia científica: determinação da atividade antioxidante total em frutas pelo método de redução do ferro (FRAP).** 2006.

RUFFINO, M. D. S. M. *et al.* **Metodologia científica: determinação da atividade antioxidante total em frutas pela captura do radical livre ABTS^{•+}.** 2007.

SACRAMENTO, V. M. *et al.* **Métodos para determinação de capacidade antioxidante.** Ponta Grossa: Atena, 2023.

SCHERER, R.; GODOY, H. T. Antioxidant activity index (AAI) by the 2, 2-diphenyl-1-picrylhydrazyl method. **Food chemistry**, v. 112, n. 3, p. 654-658, 2009.

SILVA, L. E. Q. *et al.* A Narrative Review: Antioxidant Use in Neurodegenerative Diseases. **Brazilian Journal of Development**, v. 8, n. 2, p. 10661-10669, 2022.

SILVEIRA, A. C. *et al.* **Método de DPPH adaptado: uma ferramenta para analisar atividade antioxidante de polpa de frutos da erva-mate de forma rápida e reprodutível.** 2018.

SNA – Sociedade Nacional de Agricultura. **Viticultura: 95% de toda a uva de mesa exportada pelo Brasil sai do Vale do São Francisco.** 2023

SUCUPIRA, N. R. *et al.* Métodos para determinação da atividade antioxidante de frutos. **Journal of Health Sciences**, v. 14, n. 4, 2012.

TEIXEIRA, S. C.; SOARES, N. de F. F.; STRINGHETA, P. C. Desenvolvimento de embalagens inteligentes com alteração colorimétrica incorporadas com antocianinas: uma revisão crítica. **Brazilian Journal of Food Technology**, v. 24, 2021.

TEMPLE, N. J.; MACHNER, A. Antioxidants in Health and Disease. **Nutritional health: strategies for disease prevention.** p. 89-100, 2001.

TORRES, P. B. *et al.* **Ensaio do potencial antioxidante de extratos de algas através do sequestro do ABTS^{•+} em microplaca.** Instituto de Biociências, Universidade de São Paulo, p. 1-4, 2017.

URREA-VICTORIA, V. *et al.* **Ensaio antioxidante em microplaca do poder de redução do ferro (FRAP) para extratos de algas.** Instituto de Biociências, Universidade de São Paulo, p. 1-6, 2016.

VASCONCELOS, T. B. de *et al.* Radicais livres e antioxidantes: proteção ou perigo? **UNOPAR Científica.** Ciências Biológicas e da Saúde, v. 16, n. 3, p. 213-219, 2014.

VICENTINI, M. S. **Alimentos industrializados: abordagem da indústria, consumidores e governo.** Segurança Alimentar e Nutricional, Campinas, SP, v. 22, n. 1, p. 671–682, 2015.

WURZ, D. A. *et al.* Panorama da comercialização de suco de uva no Brasil. **Revista Agronomia Brasileira, Jaboticabal**, v. 1, n. 1, p. 1-3, 2017.