

DETERMINAÇÃO ELETROQUÍMICA DA CAPACIDADE ANTIOXIDANTE DE SUCOS DE FRUTAS INDUSTRIALIZADOS USANDO O CRAC ASSAY

Rafael de Queiroz Ferreira* e Luis Alberto Avaca

Instituto de Química de São Carlos, Universidade de São Paulo, CP 780, 13560-970 São Carlos – SP, Brasil

Recebido em 18/2/08; aceito em 26/6/08; publicado na web em 31/10/08

ELECTROCHEMICAL DETERMINATION OF THE ANTIOXIDANT CAPACITY OF INDUSTRIALIZED FRUITS JUICES USING THE CRAC ASSAY. Fruits juices are natural sources of several compounds that present antioxidant action. Together with the fruits, they contribute with almost 40% of the antioxidant capacity in a healthy diet avoiding and preventing diseases deriving from oxidative stress. The present study determined the antioxidant capacity of seven samples of industrialized fruits juices applying CRAC (Ceric Reducing/Antioxidant Capacity) assay, a new electrochemistry assay that evaluates, by means of chronoamperometric measurements, the ability of a sample in reducing species Ce^{4+} in acid media. At the end of the assay was obtained the following classification: cashew > guava > grape > mango > apple > orange > passion fruit.

Keywords: antioxidant capacity; fruits juices; CRAC assay.

INTRODUÇÃO

Os sucos de frutas industrializados são consumidos e apreciados em todo o mundo, não só pelo seu sabor, mas também por serem fontes naturais de polifenóis, carboidratos, carotenóides, vitaminas e minerais, dentre inúmeros compostos de menor relevância.¹ No Brasil, os sucos de frutas industrializados são uma tradição, sendo envasados em garrafas de vidro, em embalagens cartonadas do tipo *tetrapak* ou, mais recentemente, em embalagens de poliestireno tereftalato, mais conhecidas como embalagens PET.²

Além do caráter nutritivo, alguns compostos presentes nos sucos de frutas apresentam ação antioxidante. Segundo Halliwell um antioxidante é qualquer substância que, quando presente em baixas concentrações comparadas à de um substrato oxidável, significativamente previne ou diminui a oxidação desse substrato.³ Assim, os compostos antioxidantes presentes nos sucos de frutas auxiliam na manutenção do equilíbrio entre as defesas antioxidantes e os radicais livres presentes no corpo humano, evitando e prevenindo diversas doenças oriundas do estresse oxidativo.⁴⁻⁶ Ademais, as frutas e conseqüentemente os sucos de frutas apresentam a maior contribuição antioxidante diária em uma dieta alimentar completa (café da manhã, almoço e jantar). Sua contribuição antioxidante chega a 37%; seguida por pão, cereais e batata com 32%; hortaliças e legumes com 17%; cacau com 9%; frutos secos com 3% e azeite de oliva com 2%.⁷

Uma mudança apropriada na dieta alimentar pela inclusão desses nutrientes pode contribuir na prevenção de doenças e para manutenção de uma vida mais saudável.¹ Contudo, a determinação da capacidade antioxidante de alimentos ainda apresenta sérias limitações, principalmente devido a não padronização de uma metodologia que apresente resultados representativos para uma ampla variedade de amostras naturais e industrializadas.^{8,9} Desta forma, novas metodologias estão sendo criadas e adaptadas para suprir essas necessidades, dentre elas, podemos destacar o emprego de ensaios eletroquímicos para a determinação da capacidade antioxidante.

Determinação eletroquímica da capacidade antioxidante – CRAC assay

Diversos testes propostos na literatura variam basicamente quanto ao tipo de radicais gerados ou à espécie oxidante empregada e aos métodos usados para sua detecção e quantificação. Em todos esses ensaios, um radical gerado ou um oxidante reage com moléculas-alvo (antioxidante), para produzir cor, fluorescência, quimioluminescência, perda ou ganho de sinais de ESR (*Electron Spin Resonance*) ou outra mudança mensurável. A presença de antioxidantes altera esses sinais, o que permite sua análise quantitativa.¹⁰

A ação antioxidante ocorre basicamente segundo dois mecanismos: o *Hydrogen Atom Transfer* (HAT) e o *Single Electron Transfer* (SET) que podem ocorrer isoladamente ou em paralelo. O mecanismo dominante em um dado sistema é determinado pela estrutura do antioxidante, suas propriedades, solubilidade e coeficiente de partição. Dentre esses dois mecanismos, o SET é o mais empregado na determinação da capacidade antioxidante de amostra de alimentos. Nos ensaios SET a capacidade antioxidante é representada pela habilidade que o antioxidante possui para reduzir o composto oxidante em um tempo predeterminado. A Equação 1 representa a reação redox do antioxidante (AO) que atua reduzindo o oxidante pela transferência de elétrons.^{8,9}



Atualmente existem diversos ensaios que empregam mecanismos SET, porém apresentam diferentes compostos oxidantes. Os principais ensaios são: o FRAP (*Ferric Reducing/Antioxidant Power*) que parte da redução do complexo Fe^{3+} -TPTZ (ferritripiridiltriazina) [2,4,6-tri(2-piridil)-1,3,5-triazina] a Fe^{2+} -TPTZ (ferroso-tripiridiltriazina) por redutores (AO) presentes na amostra, em meio ácido (pH = 3,6),^{11,12} o CUPRAC (*Cupric Reducing/Antioxidant Capacity*) que parte da redução de íons complexos Cu^{2+} para Cu^{1+} ,¹³ o TEAC (*Trolox Equivalent Antioxidant Capacity*) que parte da leitura da inibição do cátion radical ABTS (2,2-Azino-bis-(3-etilbenzotiazolina-6-sulfonato), sal de diamônio) produzido na reação¹⁴ e o ensaio do DPPH que parte do sequestro de radicais livres DPPH (2,2-difenil-1-picrila-hidrazila).¹⁵ Recentemente, um novo ensaio SET foi desen-

*e-mail: rafaelqf@iqsc.usp.br

volvido empregando o poder de redução de espécies Ce^{4+} em meio ácido (H_2SO_4 0,3 mol L^{-1}). Esse ensaio recebeu o nome de CeRAC (*Ceric ion Reducing Antioxidant Capacity*) e apresentou resultados superiores aos descritos pelas metodologias anteriores.¹⁶ Porém, a grande limitação desses ensaios é o emprego da espectrofotometria como técnica de detecção, já que esta sofre forte interferência por parte de amostras coloridas e turvas.^{8,17}

Como alternativa para essas metodologias, um novo ensaio eletroquímico foi desenvolvido. Esse ensaio emprega a cronoamperometria como técnica de detecção e utiliza uma solução ácida de sulfato de cério (IV) como oxidante, razão pela qual foi denominado CRAC (*Ceric Reducing/Antioxidant Capacity*) assay.¹⁸ Como vantagens, descartaríamos um rigoroso pré-tratamento da amostra, além de usar equipamentos mais baratos e uma técnica analítica mais simples. Além do mais, o Ce^{4+} é um poderoso oxidante (potencial redox de 1,29 V *versus* Ag/AgCl) que reage praticamente com todos os antioxidantes presentes na dieta humana.^{16,18} A Tabela 1 apresenta uma comparação baseada na simplicidade dos ensaios, instrumentação requerida, técnicas de detecção e tempo de reação entre os principais métodos que empregam mecanismos SET na determinação da capacidade antioxidante e o ensaio CRAC.

Nessa perspectiva, o presente trabalho visou determinar a capacidade antioxidante de 7 amostras de sucos de frutas industrializados, aplicando o CRAC assay como método de análise para a quantificação da concentração das espécies Ce^{3+} formadas e correlacioná-las com o poder de redução das amostras.

PARTE EXPERIMENTAL

Reagentes e soluções

Todas as soluções empregadas nos experimentos foram preparadas a partir de reagentes de grau analítico utilizando água ultrapura (resistividade de 18,2 M Ω – cm 25 °C) de um sistema de purificação Milli-Q Plus (Millipore). Para a preparação da solução oxidante utilizou-se uma solução estoque de $Ce(SO_4)_2 \cdot 4H_2O$ (98%, E. Merck) $1,03 \times 10^{-3}$ mol L^{-1} em H_2SO_4 (97,99%, Mallinckrodt) 0,5 mol L^{-1} . Nos ensaios preliminares empregando voltametria cíclica e no pré-tratamento do eletrodo de trabalho utilizou-se uma solução de H_2SO_4 0,5 mol L^{-1} como eletrólito suporte. Trolox (Ácido 6-hidroxi-2,5,7,8-tetrametilcroman-2-carboxílico), um análogo hidrossolúvel da vitamina E (97%, Aldrich) e ácido L-ascórbico (99,0%, Labsynth) foram empregados como padrões na concentração final de 50×10^{-6} mol L^{-1} .

Amostras

Foram usadas 7 amostras de sucos de frutas industrializados (embalagem *tetrapak* de 200 mL) de três diferentes marcas (A, B e C) nos sabores caju (marca C), goiaba (marca C), laranja (marca B), maçã (marca A), manga (marca C), maracujá (marca C) e uva (marca C). Todos os sucos analisados são sucos concentrados, ou seja, sucos

parcialmente desidratados que mencionam no rótulo o percentual de sua polpa. Estes sucos passaram por processos tecnológicos adequados, como liofilização e pasteurização, para garantir sua integridade até o consumo. As principais informações técnicas obtidas nos rótulos dos produtos estão contidas como nota na Tabela 2.

Instrumentação

Os experimentos eletroquímicos foram realizados em uma célula convencional de vidro Pyrex[®] de compartimento único (20 mL) com orifício para encaixe de três eletrodos e capilar para desaeração da solução com nitrogênio gasoso (99,997%). Um eletrodo auxiliar de placa de platina com área geométrica de 2 cm² foi usado em conjunto com um eletrodo de referência de Ag/AgCl (KCl 3,0 mol L^{-1}) e com um eletrodo de trabalho de diamante dopado com boro (DDB/8000 ppm) com área geométrica de 0,36 cm², produzido pelo Centro Suíço de Eletrônica e Microtécnica (CSEM), Neuchâtel.

Para realização dos ensaios eletroquímicos utilizou-se um potenciostato/galvanostato PGSTAT30 da Autolab acoplado a um computador para análise e aquisição de dados.

Metodologia

Ensaio voltamétrico

Nos ensaios preliminares empregando voltametria cíclica, adicionou-se, para cada amostra, 300 μ L de sucos de frutas e 10 mL de eletrólito suporte (H_2SO_4 0,5 mol L^{-1}) à cela eletroquímica. Após 10 min de desaeração com nitrogênio gasoso, realizou-se a varredura do potencial no sentido de redução das amostras de 1,5 a 0,7 V, com velocidade de varredura de 100 mV s^{-1} .

Ensaio cronoamperométrico

A cronoamperometria, como o próprio nome sugere, determina a corrente que flui através do eletrodo de trabalho como função do tempo em um potencial constante. Esse fluxo de corrente é correlacionado com o gradiente de concentração das espécies oxidadas ou reduzidas na superfície do eletrodo de trabalho por meio da equação de Cottrell (Equação 2):¹⁹

$$I_t = \frac{nFAC \sqrt{D_0}}{\pi^{1/2} t^{1/2}} = bt^{-1/2} \quad (2)$$

onde: I_t é a corrente a um tempo t , n é o número de elétrons, F é a constante de Faraday, A é a área do eletrodo, C é a concentração das espécies oxidadas e D é o coeficiente de difusão das espécies oxidadas.

Na cronoamperometria do tipo *potential-step* são aplicados dois potenciais. O primeiro potencial (E_1) é aplicado em uma região onde não ocorre reação com as espécies eletroativas e tem como função carregar a dupla camada elétrica na superfície do eletrodo de trabalho. Já o segundo potencial (E_2) é o potencial onde ocorre a redução das

Tabela 1. Comparação entre os principais ensaios antioxidantes que empregam mecanismos SET e o ensaio CRAC

Ensaio Antioxidante	Simplicidade	Instrumentação Requerida	Técnica de Detecção	Tempo de Reação (min)
FRAP	++	++	Espectrofotometria	4 – 30
CUPRAC	++	++	Espectrofotometria	30 – 60
TEAC	+	+	Espectrofotometria	30
DPPH	+	+	Espectrofotometria	t_{EC50}
CRAC	+++	+++	Cronoamperometria	4

+, ++ e +++ = unidade de quantificação do parâmetro; t_{EC50} : Tempo necessário para a concentração inicial do radical DPPH cair 50%.

Tabela 2. Valores médios com seus respectivos desvios padrões para os coeficientes angulares de Cottrell (b_M), CRAC *value* e Trolox Equivalente (TE) determinados após a adição em triplicata de 300 μL de amostra a 10 mL de solução oxidante (Ce^{4+} 1×10^{-3} mol L^{-1} em meio ácido)

Amostras de Sucos	b_M ($\mu\text{A s}^{1/2}$)	CRAC <i>value</i> $\times 10^6$ ($[\text{Ce}^{3+}] / \text{mol L}^{-1}$)	TE
Trolox	$31,36 \pm 0,26$	$992,27 \pm 7,61$	$1,00 \pm 0,08$
Ácido Ascórbico	$30,21 \pm 0,08$	$132,47 \pm 2,35$	$1,33 \pm 0,02$
Maracujá	$16,31 \pm 0,85$	$533,98 \pm 24,47$	$5,38 \pm 0,24$
Laranja	$15,89 \pm 1,07$	$546,24 \pm 30,89$	$5,50 \pm 0,31$
Maçã	$15,80 \pm 0,72$	$548,85 \pm 20,72$	$5,53 \pm 0,21$
Manga	$12,88 \pm 0,04$	$633,14 \pm 1,09$	$6,38 \pm 0,01$
Uva	$7,87 \pm 0,15$	$778,03 \pm 4,26$	$7,84 \pm 0,04$
Goiaba	$3,35 \pm 0,87$	$908,76 \pm 25,15$	$9,16 \pm 0,25$
Caju	$0,81 \pm 0,04$	$981,98 \pm 1,17$	$9,89 \pm 0,01$

Especificações: Suco de Maracujá – Polpa (mínimo 16%), sem conservantes, Teor de ác. ascórbico (não informa); Suco de Laranja – Polpa (não informa), conservante (ác. ascórbico); Teor de ác. ascórbico (não informa); Suco de Maçã – Polpa (não informa), conservante (ác. ascórbico); Teor de ác. ascórbico (33 mg/200 mL); Suco de Manga – Polpa (mínimo 58%), sem conservantes; Teor de ác. ascórbico (28 mg/200 mL); Suco de Uva – Polpa (não informa), sem conservantes; Teor de ác. ascórbico (não informa); Suco de Goiaba – Polpa (mínimo 45%), conservante (ác. ascórbico); Teor de ác. ascórbico (70 mg/200 mL); Suco de Caju – Polpa (mínimo 35%), conservante (dióxido de enxofre); Teor de ác. ascórbico (71 mg/200 mL).

espécies Ce^{4+} (Figura 1A).¹⁹

A Figura 1B apresenta o comportamento da corrente com o tempo na região de aplicação de cada potencial. Observa-se também a partir da equação de Cottrell (Equação 2) uma correlação linear entre I e $t^{-1/2}$. Por fim, a Figura 1C apresenta essa correlação representada pelo coeficiente angular da reta (b) que é diretamente proporcional à concentração das espécies oxidadas, uma vez que os demais termos presentes na equação de Cottrell são constantes.

Para monitorar o decaimento da concentração das espécies Ce^{4+} partiu-se do potencial de circuito aberto do sistema ($E_1 \sim 1,29\text{V}$) durante 1 s, seguido pela aplicação de um salto de potencial de redução a um potencial final ($E_2 = 0,8\text{V}$) durante 10 s e registrou-se a variação da corrente com o tempo.

Obtenção da curva padrão

Para a solução oxidante de Ce^{4+} obteve-se uma curva padrão a partir da variação de sua concentração contra o coeficiente angular de Cottrell (b) obtido nos ensaios cronoamperométricos subseqüentes.

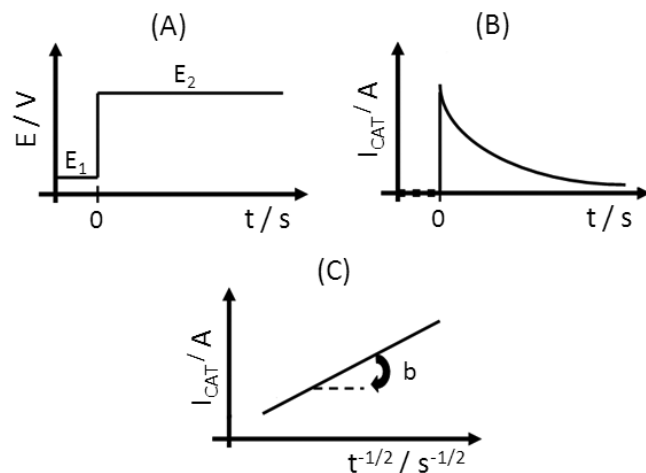


Figura 1. (A) Aplicação do potencial-step em um ensaio cronoamperométrico; (B) comportamento da corrente com o tempo e (C) da corrente com $t^{-1/2}$ segundo a equação de Cottrell

tes. Para isso, adicionou-se à cela eletroquímica 10 mL de diluições sucessivas da solução oxidante em um intervalo de concentração variando de 0 a 1×10^{-3} mol L^{-1} . Em cada ensaio, a solução oxidante foi submetida a uma desaeração, por 10 min, antes das determinações cronoamperométricas subseqüentes.

Determinação da capacidade antioxidante das amostras

Para cada amostra de suco de fruta e para as soluções padrões de Trolox e ácido ascórbico determinou-se a capacidade antioxidante, adicionando-se em triplicata 300 μL de amostra a 10 mL de solução oxidante (Ce^{4+} 1×10^{-3} mol L^{-1} em meio ácido). Antes da aplicação dos saltos cronoamperométricos, a solução oxidante foi submetida a uma desaeração inicial por 6 min, seguida por 4 min de reação sob agitação por desaeração após a adição da amostra. No início e entre os ensaios cronoamperométricos, realizou-se também um pré-tratamento anódico e catódico do eletrodo de trabalho (DDB) pela aplicação respectiva de um potencial de 3,0 V durante 15 s, seguido da aplicação de um potencial de $-3,0$ V durante 45 s em uma solução de H_2SO_4 0,5 mol L^{-1} , para assegurar a confiabilidade e a reprodutibilidade dos resultados.²⁰

RESULTADOS E DISCUSSÃO

O sulfato de cério (IV) é um oxidante bastante específico para a determinação eletroquímica da capacidade antioxidante. Ele sofre redução, segundo Cottrell, em potenciais inferiores a 1,0 V. Desta forma, utilizou-se um potencial de redução de 0,8 V (E_2) nos ensaios cronoamperométricos. Anteriormente a esse salto de potencial, empregou-se o potencial de circuito aberto da cela (E_1) para formação da dupla camada elétrica na superfície do eletrodo de trabalho, evitando também reações paralelas com o analíto, já que este é o potencial de equilíbrio do sistema.

Para garantir sua estabilidade, o sal de Ce^{4+} é usado apenas em soluções ácidas, sendo mais apropriada uma solução de H_2SO_4 0,5 mol L^{-1} , que é um excelente eletrólito suporte para ensaios eletroquímicos. A Figura 2 apresenta os voltamogramas cíclicos de uma solução de H_2SO_4 0,5 mol L^{-1} (eletrólito suporte), de uma solução de Ce^{4+} 1×10^{-3} mol L^{-1} e da amostra de suco de laranja. Observa-se que o oxidante (Ce^{4+}) não sofre interferência por parte das amostras de suco em sua

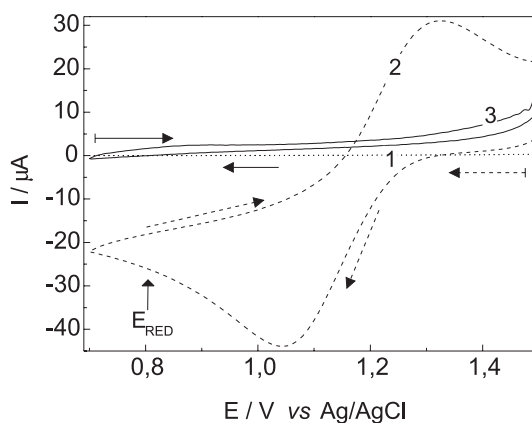


Figura 2. Voltametria cíclica do (1) eletrólito suporte (H_2SO_4 $0,5 \text{ mol L}^{-1}$), (2) oxidante (Ce^{4+} $1 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$) e (3) amostra de suco de laranja industrializado. (→) Sentido da varredura; velocidade de varredura 100 mV s^{-1} versus $Ag/AgCl$

região de redução ($0,8 \text{ V}$). Os demais sucos de frutas, não mostrados, apresentam comportamento similar ao suco de laranja.

Nos ensaios cronamperométricos, inicialmente determinou-se a curva padrão do oxidante observando a dependência da I com $t^{-1/2}$ a partir da Equação de Cottrell, em um intervalo de concentração variando de 0 a $1 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$ (Figura 3A). A Figura 3B apresenta a curva padrão obtida a partir da variação dos coeficientes angulares de Cottrell contra a concentração das espécies Ce^{4+} presentes em solução.

A partir da Equação de regressão da curva padrão (Equação 3) podemos obter a concentração das espécies Ce^{4+} remanescentes após a reação com os antioxidantes presentes em cada amostra.

$$b = (0,19 \pm 0,10) \mu\text{A s}^{1/2} + (3,46 \times 10^4 \pm 1,11 \times 10^2) \mu\text{A s}^{1/2}/\text{mol L}^{-1} \times [Ce^{4+}]_{\text{remanescente}} \text{ mol L}^{-1} \quad (3)$$

A concentração das espécies Ce^{3+} formadas é obtida na Equação 4 pela subtração da concentração das espécies remanescentes de Ce^{4+} pela concentração inicial de Ce^{4+} ($1 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$). A concentração das espécies Ce^{3+} formadas após 4 min de reação com a amostra (AO) é então empregada na determinação da capacidade antioxidante (CRAC Value).

$$\text{CRAC value} = 1 \times 10^{-3} - \frac{b_{AO} - 0,19}{3,46 \times 10^4} \quad (4)$$

($[Ce^{3+}]/\text{mol L}^{-1}$)

Em seguida, foram determinados os valores dos coeficientes angulares de Cottrell para cada adição de amostra à solução oxidante. A Figura 4 apresenta a dependência da I com $t^{-1/2}$ utilizados na obtenção dos valores médios dos coeficientes angulares de Cottrell (b_M).

Os valores de b_M foram substituídos na Equação 4 e com eles foi determinado o CRAC Value de cada amostra. Outro parâmetro bastante empregado na determinação da capacidade antioxidante é a quantificação do Trolox Equivalente (TE), ou seja, um valor numérico adimensional que expressa o quanto a amostra equivale ao Trolox em ação antioxidante. O Trolox equivalente é obtido a partir do CRAC Value de acordo com a Equação 5:

$$\text{TE (Trolox Equivalente)} = \frac{\text{CRAC Value (AO)}}{\text{CRAC Value (Trolox)}} \quad (5)$$

A Tabela 2 apresenta todos os resultados obtidos nos ensaios cronamperométricos.

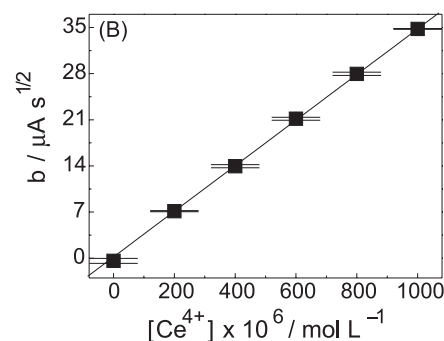
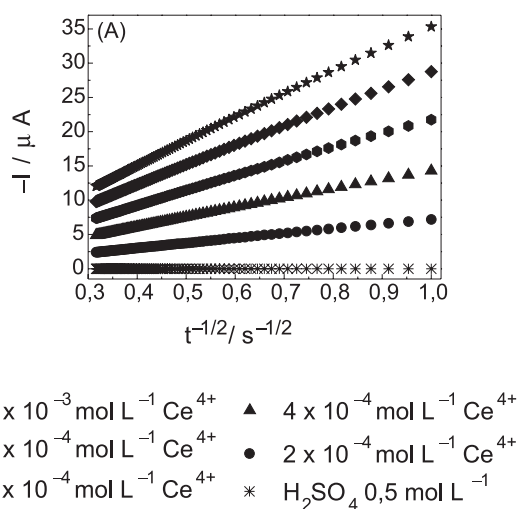


Figura 3. (A) Dependência da I com $t^{-1/2}$ a partir da Equação de Cottrell para o eletrólito suporte (H_2SO_4 $0,5 \text{ mol L}^{-1}$) e para a solução oxidante (Ce^{4+}) em diferentes concentrações; (B) curva padrão obtida a partir dos valores dos coeficientes angulares de Cottrell (b) versus a concentração da solução oxidante (Ce^{4+})

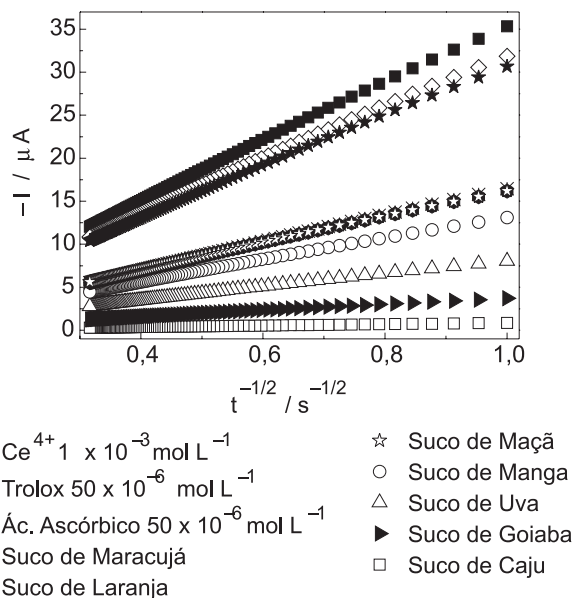


Figura 4. Dependência da I com $t^{-1/2}$ a partir da Equação de Cottrell para obtenção do b_M após adição da amostra à solução oxidante

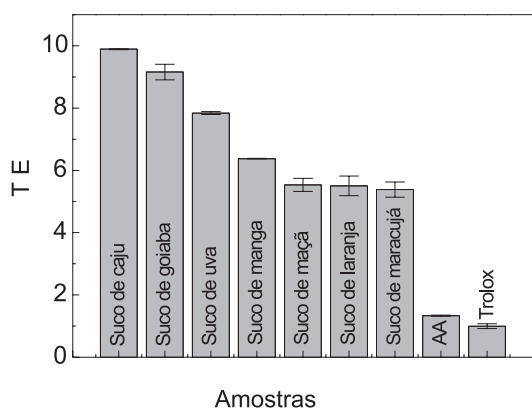


Figura 5. Representação gráfica dos valores de TE (Trolox Equivalente) para cada amostra de suco de frutas e para as soluções padrões de ácido ascórbico (AA) e Trolox ($50 \times 10^{-6} \text{ mol L}^{-1}$)

Os valores de TE apresentados na Tabela 2 podem ser usados para uma comparação entre amostras. A Figura 5 apresenta uma representação gráfica desses valores que sugerem, por exemplo, que um copo de suco de caju da marca C equivale, em capacidade antioxidante, a quase dois copos de suco de laranja da marca B. Esses valores sugerem também que a capacidade antioxidante de um copo de suco de caju equivale à mesma quantidade em solução de ácido ascórbico (AA) na concentração de $355 \times 10^{-6} \text{ mol L}^{-1}$.

A partir desses resultados é possível inferir sobre a importância de cada amostra na complementação de uma dieta saudável capaz de suprir as necessidades antioxidantes do corpo humano. Contudo, é importante ressaltar que as composições dos sucos de frutas industrializados variam de acordo com as variedades ou espécies de fruta, com a maturidade, com os efeitos ambientais e climáticos da estação de crescimento de cada cultura, dentre inúmeros fatores.² Além disso, os sucos concentrados apresentam diferentes teores de polpa e passam por processos industriais, como liofilização e pasteurização, que influenciam diretamente na capacidade antioxidante do produto final, já que degradam os compostos antioxidantes e, por conseguinte, diminuem a sua capacidade antioxidante. Assim, as correlações apresentadas neste trabalho são válidas apenas para estas amostras em particular, não sendo interessante realizar extrapolações para outras marcas ou amostras de sucos naturais.

CONCLUSÕES

Ao final dos ensaios eletroquímicos foi obtida uma hierarquia referente à capacidade antioxidante das amostras de suco: caju > goiaba > uva > manga > maçã > laranja > maracujá. Esses resultados são representativos, sobretudo se considerarmos a concentração de ácido ascórbico descrita na literatura e presente nos rótulos de cada amostra de suco de frutas.²¹ Porém, é importante ressaltar, que outros antioxidantes, principalmente flavonóides, estão presentes nas

amostras de sucos de frutas.

Ao contrário de outros testes que determinam a capacidade antioxidante total, o CRAC *assay* é simples, rápido, barato e robusto, pois utiliza antioxidantes como redutores em um sistema redox. Além disso, um pré-tratamento da amostra não é requerido, os fatores estequiométricos são constantes, a linearidade é mantida após uma grande variação de concentração, sua reprodutibilidade é excelente e sua sensibilidade é alta. O CRAC *assay* não requer equipamentos altamente especializados ou um controle crítico do tempo e das condições reacionais. Por todos esses motivos o CRAC *assay* surge como uma alternativa viável para a determinação da capacidade antioxidante total de amostras de alimentos.

AGRADECIMENTOS

À CAPES e ao CNPq pelo suporte financeiro.

REFERÊNCIAS

- Shils, M. E.; Olson, J. A.; Shike, M.; *Modern nutrition in health and disease*, 8th ed., Lea & Febiger: Philadelphia, 1994.
- Pinheiro, A. M.; Fernandes, A. G.; Cavalcante, A. E.; Prado, G. M.; Sousa, P. H. M.; Maia, G. A.; *Ciênc. Tecnol. Aliment.* **2006**, *26*, 98.
- Halliwell, B.; *Free Radical Res. Commun.* **1990**, *9*, 1.
- Alonso, M. G.; Teresa, S. P.; Buelga, C. S.; Gonzalo, J. C. R.; *Food Chem.* **2004**, *84*, 13.
- Wang, H.; Cão, G.; Prior, R. L.; *J. Agric. Food Chem.* **1996**, *44*, 701.
- Kaur, C.; Kapoor, H. C.; *Int. J. Food Sci. Technol.* **2001**, *36*, 703.
- <http://www.nutricion.org>, acessada em Agosto 2007.
- Huang, D.; Ou, B.; Prior, R. L.; *J. Agric. Food Chem.* **2005**, *53*, 1841.
- Prior, R. L.; Wu, X.; Schaich, K.; *J. Agric. Food Chem.* **2005**, *53*, 4290.
- Vasconcelos, S. M. L.; Goulart, M. O. F.; Moura, J. B. F.; Manfredini, V.; Benfato, M. S. B.; Kubota, L. T.; *Quim. Nova* **2007**, *30*, 1338.
- Benzie, I. F. F.; Strain, J. J.; *Meth. Enzymol.* **1999**, *299*, 15.
- Benzie, I. F. F.; Strain, J. J.; *Anal. Biochem.* **1996**, *239*, 70.
- Apak, R.; Güçlü, K. G.; Özyürek, M.; Karademir, S. E.; *J. Agric. Food Chem.* **2004**, *52*, 7970.
- Miller, N. J.; Diplock, A. T.; Rice-Evans, C.; Davies, M. J.; Gopinathan, V.; Milner, A.; *Clin. Sci.* **1993**, *84*, 407.
- Brand-Williams, W.; Cuvelier, M. E.; Berset, C.; *Lebensm. Wiss. Technol.* **1995**, *28*, 25.
- Ozyurt, D.; Demirata, B.; Apak, R.; *Talanta* **2007**, *71*, 1155.
- Milardovic, S.; Ivekovic, D.; Grabaric, B. S.; *Bioelectrochemistry* **2005**, *68*, 180.
- Ferreira, R. Q.; Avaca, L. A.; *Electroanalysis* **2008**, *12*, 1323.
- Bard, A. J.; Faulkner, L. R.; *Electrochemical Methods: Fundamentals and Applications*, 2nd ed., Wiley: New York, 2001.
- Suffredini, H. B.; Pedrosa, V. A.; Codognato, L.; Machado, S. A. S.; Rocha-Filho, R. C.; Avaca, L. A.; *Electrochim. Acta* **2004**, *49*, 4021.
- Roncada, M. J.; Wilson, D.; Sugimoto, L.; *Rev. Saúde Públ.* **1977**, *11*, 39.