

UNIVERSIDADE FEDERAL DE PELOTAS
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIA E
TECNOLOGIA AGROINDUSTRIAL



DISSERTAÇÃO

**POTENCIAL ANTIOXIDANTE CORRELACIONADO
COM FENÓIS TOTAIS E ANTOCIANINAS DE
CULTIVARES DE AMORA-PRETA, MIRTILO,
MORANGO E PÊSSEGO**

ROBERTA DA SILVA E SILVA

PELOTAS, 2007

ROBERTA DA SILVA E SILVA

**POTENCIAL ANTIOXIDANTE CORRELACIONADO COM FENÓIS TOTAIS E
ANTOCIANINAS DE CULTIVARES DE AMORA-PRETA, MIRTILO, MORANGO E
PÊSSEGO**

Dissertação apresentada ao
Programa de Pós-Graduação em
Ciência e Tecnologia Agroindustrial da
Universidade Federal de Pelotas, como
requisito parcial à obtenção do título de
Mestre em Ciências (área do
conhecimento: Ciência e Tecnologia
Agroindustrial).

Orientador: João Luiz Vendruscolo

Co-orientador: Ricardo Peraça Toralles

Pelotas, 2007

Dados de catalogação na fonte:
(Marlene Cravo Castillo – CRB-10/744)

S586p Silva, Roberta da Silva e
Potencial antioxidante correlacionado com fenóis totais e
antocianinas de cultivares de amora-preta, mirtilo, morango e
pêssego / Roberta da Silva e Silva. - Pelotas, 2007.
58f. : il.

Dissertação (Mestrado) –Programa de Pós-Graduação
em Ciência e Tecnologia Agroindustrial. Faculdade de
Agronomia Eliseu Maciel. Universidade Federal de Pelotas. -
Pelotas, 2007, João Luiz Vendruscolo, Orientador; co-
orientador Ricardo Peraça Toralles.

1. DPPH 2. ABTS 3. Fenóis 4. Frutas I Vendruscolo,
João Luiz (orientador) II .Título.

CDD 664.8

Banca Examinadora

Dra. Márcia Vizzotto

Dr. Pedro Luiz Antunes

Dr. Valdecir Carlos Ferri

*Dedicado aos amores da minha vida:
meus pais, Roberto e Tereza,
meu irmão, Marcelo
e meu namorado Tiago.*

AGRADECIMENTOS

Ao Programa de Pós-Graduação em Ciência e Tecnologia Agroindustrial da UFPEL e à Embrapa Clima Temperado pelo acolhimento.

À Fundação Coordenação de Aprimoramento de Pessoal de Nível Superior (CAPES) pela concessão da bolsa.

Ao Dr. João Luiz Vendruscolo pela brilhante orientação.

Ao Prof. Dr. Ricardo Peraça Toralles pela valiosa co-orientação.

Aos colegas e professores do PPGCTA. Aos meus queridos Angelita Leitão, Eliane Barbosa, Josiane Chim, Leandro Oliveira, Rose Mary Silochi, um agradecimento especial pelas muitas trocas de experiência e amizade eterna.

Aos funcionários da Embrapa Clima Temperado, em especial, aos funcionários dos Laboratórios de Tecnologia de Alimentos e Pós-Colheita, Núbia Ferri, Jussara Xavier e Fernando Volcan, pela confiança, respeito e amizade.

Aos colegas de pesquisa que acompanharam o dia a dia dessa trajetória com palavras amigas e presença marcante, Ana Cristina Krolow, Ana Paula Schünemann, Carolina Bender, Elisabete Becker, Letícia Castañeda, Nara Ristow, Renato Trevisan, Ricardo Sainz e Rosa Treptow. Com vocês aprendi que quando a amizade é verdadeira ela se estende pra fora do convívio profissional.

Aos pesquisadores da Embrapa Clima Temperado, Dra. Maria do Carmo Bassols Raseira e Luís Eduardo Correa Antunes que forneceram a matéria-prima para realização desse trabalho.

Ao Dr. Marco Antônio Rangel pelo apoio e colaboração a este trabalho.

A Dra. Márcia Vizzotto, pelos valiosos ensinamentos e sugestões e pelas palavras de incentivo e reconhecimento expressados na apresentação desta dissertação. Minha profunda admiração pela pessoa e pela profissional.

RESUMO

SILVA, Roberta da Silva e. **Potencial Antioxidante correlacionado com Fenóis Totais e Antocianinas de Cultivares de Amora-Preta, Mirtilo, Morango e Pêssego**. 2007.58f.Dissertação (Mestrado)-Programa de Pós-Graduação em Ciência e Tecnologia Agroindustrial.Universidade Federal de Pelotas, Pelotas.

A capacidade antioxidante, fenóis totais e antocianinas de um grupo seletivo de frutas, cultivados na região sul do Rio Grande do Sul, foram investigados. Diferentes cultivares de morango, amora-preta, mirtilo e pêssego, foram avaliadas quanto a capacidade antioxidante, com base na sua habilidade de seqüestrar radicais livres, ABTS e DPPH. A capacidade antioxidante dos extratos das frutas (TEAC) foi medida pelo monitoramento da mudança na absorbância do radical livre a 515nm para o método DPPH e 734nm para o método ABTS, e, expressa em micromoles de equivalentes de Trolox de acordo com a curva padrão. Os valores de TEAC-DPPH, variaram de 7,06 e 13,22 μmols de TE/g de fruta, para as cvs. de amora-preta; de 5,17 a 7,72 μmols de TE/g de fruta para as cvs. de morango; de 4,3 a 7,26 μmols de TE/g de fruta para as cvs. de mirtilo; e de 0,60 a 2,38 μmols de TE/g de fruta para cvs. de pêssego. A boa correlação encontrada para TEAC pelos métodos DPPH e ABTS quando avaliados em morango, permite inferir que ambos os métodos sejam equivalentes para avaliar a capacidade antioxidante de frutas. O teor de fenóis totais e foi altamente correlacionado com a capacidade antioxidante em morango e amora-preta. O conteúdo de antocianinas só apresentou correlação com a capacidade antioxidante nas cultivares de amora-preta. Entre as frutas avaliadas, a amora-preta atingiu os valores mais altos para capacidade antioxidante por ambos os métodos.

Palavras-Chaves: DPPH. ABTS. Fenóis. Frutas.

ABSTRACT

SILVA, Roberta da Silva e. **Potencial Antioxidante Correlacionado com Fenóis Totais e Antocianinas de Cultivares de Amora-Preta, Mirtilo, Morango e Pêssego.** 2007.58f.Dissertação (Mestrado)-Programa de Pós-Graduação em Ciência e Tecnologia Agroindustrial.Universidade Federal de Pelotas, Pelotas.

The antioxidant capacity, total anthocyanins, and total phenolics of a selected group of fruits cultivated in the souther region of Rio Grande do Sul were investigated. Different cultivars of strawberry, blackberry, blueberry and peach were tested for its antioxidant capacity based on the ability to scavenge the free radicals, ABTS and DPPH. The antioxidant capacity (TEAC) was measured by the DPPH method at 515nm ABTS method at 734nm, and expressed in micromolar of trolox equivalent ($\mu\text{M TE}$). The values of TEAC-DPPH ranged from 7.06 to 13.22 $\mu\text{M TE/FW}$ to blackberries, from 5.17 to 7.72 to strawberries, from 4.3 to 7.26 to blueberries, and from 0.6 to 2.38 to peaches cultivars. The good correlation for TEAC in strawberries samples of DPPH and ABTS assays allow to infer that both of them are equivalent to evaluate antioxidant capacity of fruits. The total phenolics contents were strongly correlated with the antioxidant capacity in strawberries and blackberries. The anthocyanins contents were correlated with antioxidant capacity only in blackberries. Among the tested fruits, blackberry had the highest antioxidant capacity for both methods.

Keywords: DPPH. ABTS. Phenolics. Fruits.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 – Estrutura do núcleo flavílico.	15
Figura 2 - Antocianidinas encontradas em frutas.	15
Figura 3 - Estrutura de compostos fenólicos comumente encontrados em frutas.	17
Figura 4 – Capacidade Antioxidante de algumas frutas medida pelo método ORAC.	21
Figura 5 – Radicais Livres.	22
Figura 6 - Composição em macronutrientes de frutas de clima temperado.	24
Figura 7 - Composição em micronutrientes de frutas de clima temperado.	25
Figura 8 - Destaques na produção nacional de morangos da safra 1999.	29
Figura 9 - Curva padrão Trolox-ABTS e Trolox-DPPH.	37
Figura 10 - Correlação entre os métodos TEAC-ABTS e TEAC-DPPH para morango.	46
Figura 11- Comparação entre as cultivares que tiveram melhor desempenho como antioxidantes das frutas avaliadas.	48
Figura 12- Comparação entre a capacidade antioxidante das frutas avaliadas e alimentos que contém alta capacidade antioxidante.	49

LISTA DE TABELAS

Tabela 1- Teor de sólidos solúveis totais e peso médio do fruto das cultivares de amora-preta da Embrapa Clima Temperado.	27
Tabela 2 - Coloração da pele e teor de sólidos solúveis totais das cultivares de pêssogo.	30
Tabela 3- Absortividade molar do Trolox em ABTS e DPPH.	356
Tabela 4 - Características químicas dos extratos obtidos de quatro cultivares de morango . Pelotas – RS, safra 2006.	39
Tabela 5 - Características químicas dos extratos obtidos de amora-preta. Pelotas – RS, safra 2005.	40
Tabela 6 - Características químicas dos extratos obtidos de mirtilo. Pelotas – RS, safra 2005.	42
Tabela 7 - Características químicas dos extratos obtidos de pêssogo. Pelotas – RS, safra 2005.	44
Tabela 8 - Coeficientes de correlação entre poder antioxidante (TEAC-DPPH) e os componentes fenólicos das frutas.	45

LISTA DE ABREVIATURAS

	μ	micrograma
g		
	μ	microlitros
L		
	μ	micromoles
mol		
	A	2,2-azinobis-(ácido-3-benzotiazol-6-
BTS	sulfônico)	
	C	Cromatografia Líquida de Alta Eficiência
LAE		
	c	centímetros
m		
	D	Detectores com Arranjo de Diodo
AD		
	D	2,2- difenil-1-picrilhidrasila
PPH		
	E	Espectroscopia de Massa por
SIMS	Eletronebulização	
	G	Equivalente a Ácido Gálico
AE		
	I	Instituto Brasileiro de Fruticultura
BRAF		
	L	Litros
	m	Miligramas
g		
	m	mililitros
L		
	n	Nanômetros
m		
	°	Graus Celsius

C		
	O	Capacidade de Absorver o Radical Oxigênio
RAC		
	T	Equivalente a Trolox
E		
	T	Capacidade Antioxidante Equivalente a
EAC	Trolox	
	t	Tonelada
	T	Ácido 6 hidróxi-2,5,7,8-tetrametilcroman-2-
ROLOX	carboxílico	
	U	Departamento de Agricultura dos Estados
SDA	Unidos	

SUMÁRIO

AGRADECIMENTOS	IV
RESUMO	V
ABSTRACT	VI
LISTA DE FIGURAS	VII
LISTA DE TABELAS	VIII
LISTA DE ABREVIATURAS	IX
SUMÁRIO	X
1 INTRODUÇÃO	12
2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	13
2.1 Composição Química das Frutas de Clima Temperado	13
2.1.1 Compostos Fenólicos e Sua Atividade Antioxidante	13
2.1.1.1 A relação entre o consumo de frutas e a incidência de doenças	18
2.1.1.2 Métodos para determinar a capacidade antioxidante de frutas	20
2.1.2 Componentes Maiores	23
2.1.3 Componentes Menores	24
2.2 Breve Histórico e Taxonomia das Frutas de Clima Temperado	25
2.2.1 Amora-Preta	25
2.2.2 Mirtilo	26
2.2.3 Morango	28
2.2.4 Pêssego	29
3 MATERIAIS E MÉTODOS	31
3.1 Delineamento Experimental para Tomada de Amostra	31
3.1.1 Processamento de Amostragem	33
3.1.2 Avaliações	33

3.1.2.1 Reagentes e Padrões	34
3.1.2.2 Construção da curva-padrão	34
3.1.2.3 Determinação da Capacidade Antioxidante	35
3.2 Procedimento Estatístico	35
4 RESULTADOS E DISCUSSÃO	35
4.1 Curva Padrão Trolox-ABTS e Trolox-DPPH	35
4.2 Fenóis totais, Antocianinas e Capacidade Antioxidante	38
4.3 Correlação entre os Constituintes da Fruta e a Capacidade Antioxidante	44
4.4 Correlação entre os Métodos DPPH e ABTS	46
4.5 Comparação entre os Compostos Fenólicos e a Capacidade Antioxidante de Diferentes Alimentos	47
5 CONCLUSÃO	50
6 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	51

1 INTRODUÇÃO

Estudos epidemiológicos vêm mostrando que o consumo de frutas *in natura* ou na forma de suco, está associado a redução de doenças cardio e cerebrovasculares, além de regular o sistema imunológico, ainda, podem reduzir alguns processos carcinogênicos e proteger contra doenças típicas do envelhecimento, tais como, cataratas e degeneração macular.

Como resultado do crescente interesse do consumidor em conhecer e adquirir alimentos naturais mais saudáveis, inúmeras pesquisas mundiais estão direcionadas ao estudo da composição e da contribuição desses alimentos à saúde, pois os efeitos benéficos podem estar relacionados ao seu conteúdo antioxidante.

Embora, frutas e vegetais sejam conhecidas fontes de vitaminas, minerais e fibras, o papel antioxidante vêm sendo atribuído significativamente a outros nutrientes, como os compostos fenólicos que incluem fenóis comuns e flavonóides, como as antocianinas.

A região sul do Rio Grande do Sul possui características de clima e solo favoráveis para o cultivo de frutas como pêssago e pequenas frutas como o morango, amora-preta e mirtilo. Entretanto, apesar de existir produção e comercialização dessas frutas, não há informações, em frutas produzidas nesta região, divulgadas sobre a possibilidade de serem alimentos com atividade antioxidante.

Neste trabalho, objetivou-se avaliar o potencial antioxidante e sua correlação com fenóis e antocianinas entre cultivares de pêssago, amora-preta, morango e mirtilo, produzidos em região de clima temperado.

2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

Composição Química das Frutas de Clima Temperado

2.1.1 Compostos Fenólicos e Sua Atividade Antioxidante

Flavonóides são compostos de baixo peso molecular ligados ou não a moléculas de açúcares (Fig. 1), que constituem o maior grupo de fenóis das frutas, vegetais, sementes e bebidas derivadas de plantas, como vinhos e chás, além de tradicionais plantas medicinais como Ginkgo biloba. O consumo de flavonóides pelos seres humanos ocorre desde o início da vida humana na Terra. Mais de 4000 flavonóides de diferentes ocorrências naturais vêm sendo descritos na literatura (KING ; YOUNG,1999; GALATI ; O'BRIEN, 2004; HOUSTON,2005).

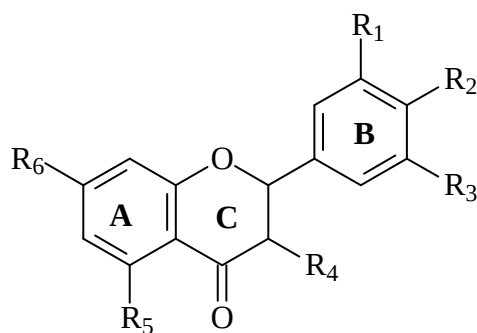


Figura 1 – Estrutura do núcleo flavílico.

Fonte: GALATI ; O'BRIEN ,2004.

Os flavonóides são derivados da benzo- γ -pirona e possuem múltiplas propriedades de seqüestrar espécies reativas de oxigênio e nitrogênio. A presença de uma orto-hidroxilação no anel B da molécula de um flavonóide (Fig. 1), o número de grupos hidroxila livres, uma dupla ligação na posição C2-C3 no anel C, ou a

presença de um grupo hidroxila no C3, são listados como uma condição de atividade antioxidante e antirradical (BURDA;OLESZEK,2001).

As classes predominantes de flavonóides presentes nas frutas são as antocianidinas, flavonóis, flavan-3-óis (catequinas) e flavan-3,4-dióis (procianidinas). Além da função de colorir, os flavonóides protegem a planta da deterioração causada pela radiação UV do sol, de ataques de parasitas, regulam determinadas reações enzimáticas para produção de substâncias responsáveis pelo flavor. A adstringência associada aos flavonóides é originada pela capacidade de precipitar proteínas, que formarão estruturas moleculares insolúveis na boca (SKREDE ; WROLSTAD, 2002; GRAMZA ; KORCZAK, 2005).

Existem seis antocianidinas comumente encontradas em uvas e pequenas frutas. As antocianidinas são classificadas de acordo com o número e a posição dos grupos hidroxila e metoxila no núcleo flavílico e são denominadas pelargonidina, cianidina, delphinidina,petunidina, peonidina e malvidina (Fig.2).

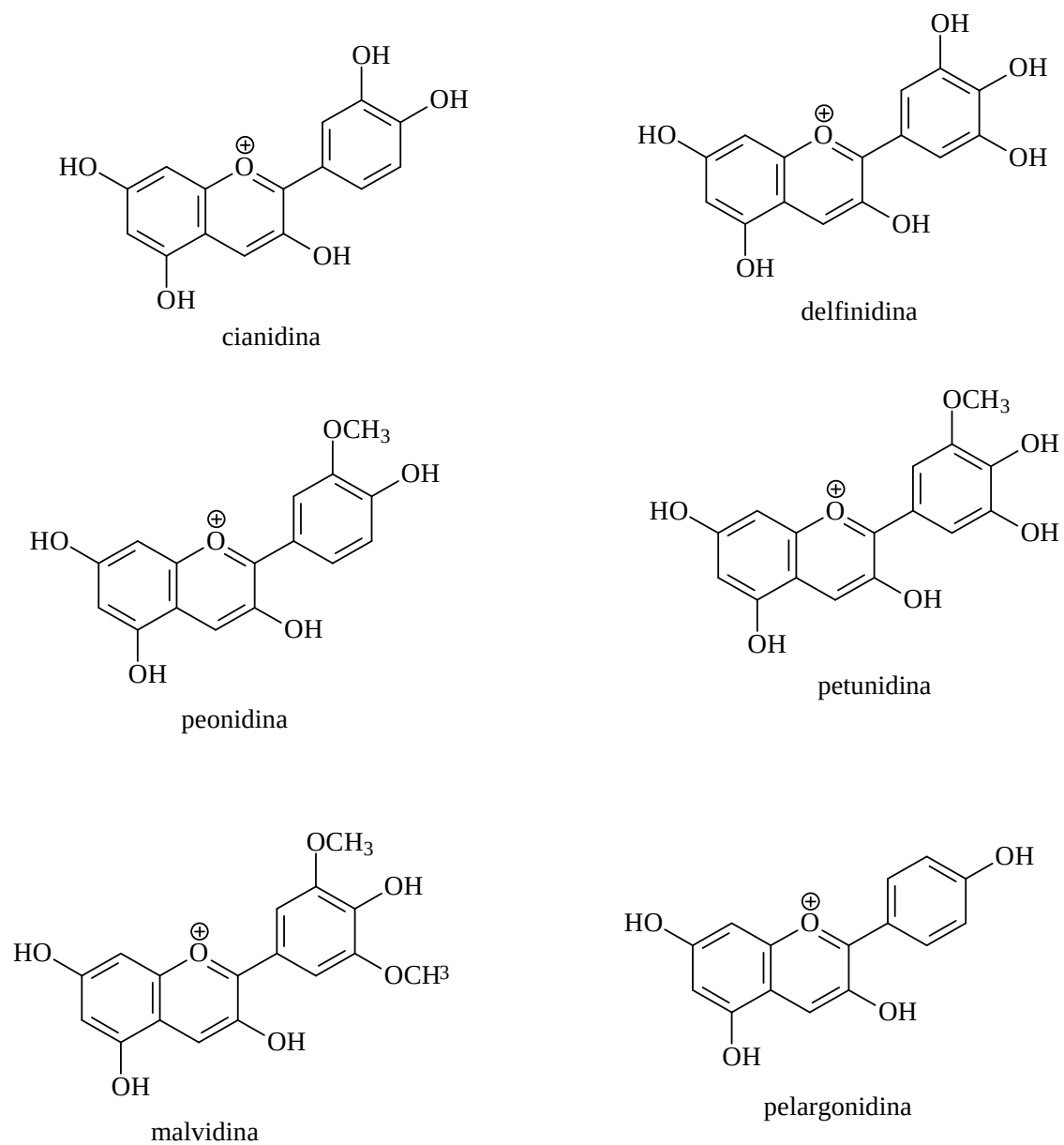


Figura 2 - Antocianidinas encontradas em frutas.

Fonte: NAKAJIMA et al. ,2004.

Antocianinas são antocianidinas com uma ou mais unidades de açúcar anexadas ao núcleo flavílico. A presença de antocianinas em frutas como morango e framboesa foi relatada na literatura por Robinson e Robinson (1931).

Estudos realizados em morango relatam que o conteúdo de antocianinas variou entre 314 e 361mg/kg de fruta fresca, em que a pelargonidina 3-glicosídeo foi a principal antocianina detectada na cultivar Johnsok, com 68% (MÄÄTTÄ-RIIHINEN et al., 2004). Duas antocianidinas glicosiladas, pelargonidina 3-glicosídeo e cianidina 3-glicosídeo, contribuem para coloração vermelha do morango (AYALA-ZAVALA et al., 2004; SEERAM et al., 2006). Cerca de 83% de pelargonidina 3-glicosídeo, seguida de pelargonidina 3-rutinosídeo (8%) e cianidina 3-glicosídeo (7%) foram encontrados por Silva et al. (2007) nas cultivares de morango Camarosa, Oso Grande, Tudnew, Carisma e Eris.

Recentemente, Silva et al. (2007) detectaram mais de 25 diferentes antocianinas em morangos de cinco cultivares colhidas em dois anos consecutivos, entre elas a cv. Camarosa, que apresentou maior conteúdo de antocianinas. Nesse estudo, foi observada grande variabilidade, entre amostras de cada cultivar e entre safras, sugerindo que fatores edafoclimáticos e grau de maturação têm forte influência nos níveis de antocianinas. Além de antocianinas, Seeram et al. (2004) identificaram, em morango, a presença de ácido elágico, quercetina e campferol (Fig.3).

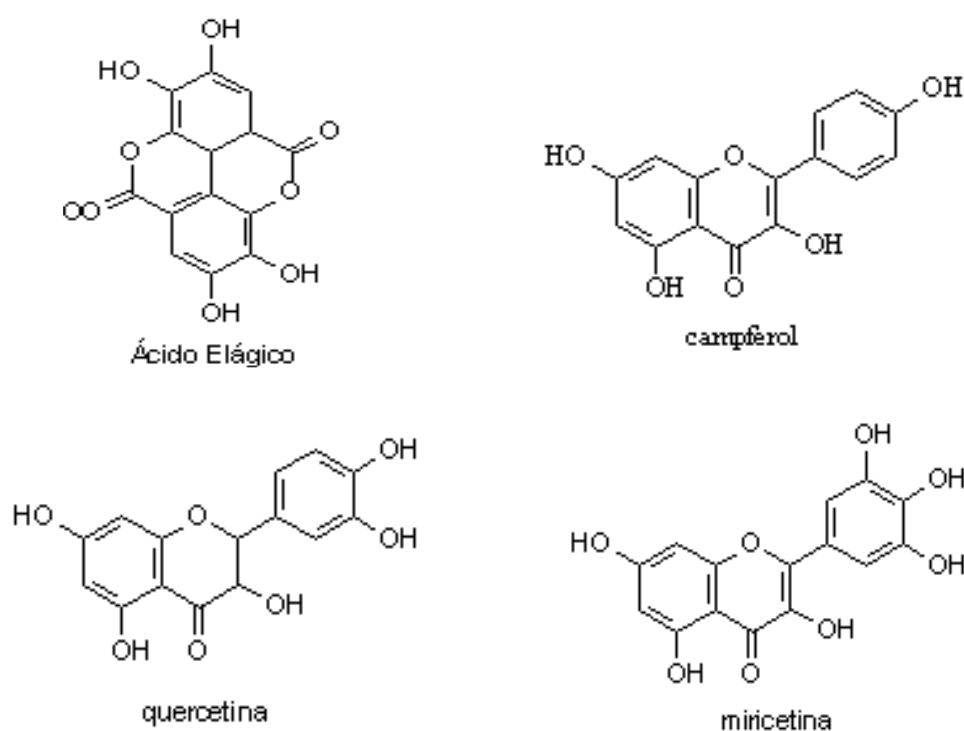


Figura 3 - Estrutura de compostos fenólicos comumente encontrados em frutas.

Fonte: AMAKURA et al (2000).

Wang e Lin (2000) observaram influência significativa de espécie, cultivar e maturidade da fruta na capacidade antioxidante, teor de antocianinas e fenóis totais em amora-preta, framboesa e morango.

Siriwoharn et al. (2004) identificaram nas cultivares de amora-preta Marion e Evergreen, as seguintes antocianinas, cianidina 3-glicosídeo, cianidina 3-rutinosídeo, cianidina-xilosídeo, cianidina 3-glicosídeo acilada com ácido malônico e cianidina 3-dioxalilglicosídeo. Wang e Lin (2000) encontraram em amora-preta das cvs. Chester Thornless, Hull Thornless e Triple Crown, respectivamente, 153,3; 171,6 e 133,5mg/100g para o conteúdo de antocianinas e, 226; 248 e 204 mg/100g GAE para o teor de fenóis totais. Em cultivares de mirtilo, Häkkinen e Törrönen (2000) identificaram quercetina e miricetina (Fig. 5). Os grupos delphinidina, malvidina, petunidina, cianidina e peonidina com resíduos de glicose, galactose e arabinose ligados na posição 3, foram as antocianinas identificadas por Nakajima et al. (2004). Stojanovic e Silva (2007) encontraram teores de 136mg/100g para antocianinas e 550mg/100g de fenóis totais em mirtilo.

Pêssegos contêm diferentes tipos de compostos fenólicos, incluindo derivados do ácido hidroxicinâmico e flavonóides (HSIA et al., 1965; SENTER et al., 1989). Tomás-Barberán et al. (2001) identificaram e quantificaram 11 compostos fenólicos, em dez cultivares de pêssegos californianos, cinco brancas e cinco amarelas. A catequina, epicatequina e procianidina B1 foram os principais flavan-3-óis encontrados e variaram consideravelmente, em composição, com o tipo de cultivar. Os flavonóides quercetina 3-glicose e quercetina 3-rutnose foram encontrados principalmente na pele, sendo a quercetina 3-rutnose produzida principalmente nas cultivares amarelas. Os pigmentos de antocianinas foram identificados como cianidina 3-glicose e rutnose. Em geral, as cultivares de cor branca produziram menos antocianinas na pele do que as de cor amarela. Dos derivados do ácido hidroxicinâmico, o ácido clorogênico foi encontrado em maior quantidade do que o neoclorogênico.

2.1.1.1 A relação entre o consumo de frutas e a incidência de doenças

Diversos estudos da literatura epidemiológica vêm revisando e relatando com grande consistência, a carência de consumo adequado de frutas e vegetais relacionando com a incidência de câncer (KOBORI, 2003). Um quarto da população com dieta com menor conteúdo em frutas e vegetais comparada com o quarto da população que apresenta uma dieta mais rica, apresentou aproximadamente duas vezes o índice de incidência para os principais tipos de câncer, como: pulmão, laringe, estômago e outros, doenças cardiovasculares, cataratas, disfunções do cérebro e do sistema imunológico (AMES; SHIGENAGA; HAGEN, 1993; STEINMETZ ; POTTER, 1996; SOUTHON, 2000; LAU; SHUKITT-HALE ; JOSEPH, 2005; VATTEM; GHAEDIAN; SHETTY, 2005).

De acordo com Boyer e Liu (2004) e Gramza e Korckzac (2005), muito do efeito protetivo de frutas e vegetais vem sendo atribuído a carotenóides, flavonóides, isoflavonóides e ácidos fenólicos.

Os flavonóides podem interferir em muitos dos passos que levam ao desenvolvimento de tumores malignos, incluindo a proteção do DNA de danos oxidativos, inibindo a ativação carcinogênica. (GALATI ; O'BRIEN, 2004).

As antocianinas vêm sendo usadas ao longo dos anos na forma de extratos e misturas, pelos chineses e pela cultura indígena, por seus poderes medicinais no combate a hipertensão, febre, disenteria, diarreia, problemas no trato urinário, como

pedras nos rins, e até gripes e resfriados. Estudos mais recentes apontam que as antocianinas são responsáveis por redução da pressão arterial, melhorar a visão, alta atividade anti-inflamatória e anti-microbiana e supressão da proliferação de células cancerígenas humanas. De um modo geral, as antocianinas têm papel importante na prevenção de doenças como câncer, diabetes, desordens cardiovasculares e neurológicas (KONCZAK; ZHANG, 2004; LILA, 2004).

O ácido elágico ($C_{14}H_6O_8$, Fig. 3), é um composto fenólico derivado do ácido gálico que possui, além de propriedades anticarcinogênica e antimutagênica, propriedades inibidoras da replicação do vírus da imunodeficiência humana (HIV), agindo também no controle de hemorragias, trombozes e herpes simples. Este elagitanino foi encontrado em morango (*Fragaria* spp), groselha preta (*Ribes nigrum*), amoreira-preta (*Rubus* subgênero *Eubatus*), framboesa (*Rubus* subgênero *Idaeobatus*), entre outras espécies (MAAS; GALLETTA; STONER, 1991).

Wang, Cao e Prior (1996), estudando a capacidade antioxidante total das frutas, calcularam a contribuição da vitamina C à atividade total de ORAC (Capacidade de Absorver o Radical Oxigênio) de sucos comerciais de frutas em cerca de 30%. Isto sugere que a principal fonte de antioxidantes em frutas e sucos de frutas pode ser outros compostos que não a vitamina C. Heo e Lee (2004) relataram que determinados compostos fenólicos, como a quercetina, têm atividade anticarcinogênica e antioxidante mais forte que a vitamina C.

Bianchi e Antunes (1999); Ferrari e Torres (2003) e Houston (2005), relacionaram os benefícios que os constituintes das frutas oferecem à saúde humana. Pela presença de antocianinas, frutas como pêssego, amora-preta, mirtilo e morango atuam em doenças cardiovasculares, câncer, diabetes, catarata, hipertensão arterial e alergias. As catequinas que são encontradas em morango, pêssego e amora-preta, estão relacionados ao controle ou prevenção de arteriosclerose. Os ácidos fenólicos presentes em amora-preta, morango e pêssego são redutores de colesterol.

A produção contínua de radicais livres durante os processos metabólicos leva ao desenvolvimento de muitos mecanismos de defesa antioxidante para limitar os níveis intracelulares e impedir a indução de danos. Os antioxidantes são agentes responsáveis pela inibição e redução das lesões causadas pelos radicais livres nas células. Esses agentes que protegem as células contra os efeitos dos radicais livres podem ser classificados em antioxidantes enzimáticos ou não-enzimáticos. Uma

ampla definição de antioxidante é “qualquer substância que, presente em baixas concentrações quando comparada a do substrato oxidável, atrasa ou inibe a oxidação deste substrato de maneira eficaz” (SOARES, 2002). Antioxidantes fenólicos funcionam como seqüestradores de radicais e algumas vezes como quelantes de metais (AMES et al. ,1995; RICE-EVANS; MILLER; PAGANGA, 1996).

Os flavonóides não possuem um único modo de ação. Eles podem agir como convencionais antioxidantes doadores de hidrogênio, como podem exercer ação moduladora nas células através de ações na proteína-quinase e lipídio-quinase (GALATI ; O'BRIEN, 2004).

A oxidação nos sistemas biológicos ocorre devido à ação dos radicais livres no organismo. Estas moléculas têm um elétron isolado, livre para se ligar a qualquer outro elétron, e por isso são extremamente reativas (SOARES,2002).

Radical livre é definido como qualquer átomo, molécula ou fragmento de molécula contendo um ou mais elétrons desemparelhados nas suas camadas de valência. Exemplos de radicais livres são: oxigênio molecular (O_2), radical hidroxil ($OH\cdot$), ânion superóxido (O_2^-), radical peroxil ($ROO\cdot$), radical alcóxil ($RO\cdot$) e óxido nítrico ($NO\cdot$). Essa configuração faz dos radicais livres moléculas altamente instáveis, com meia-vida curtíssima e quimicamente muito reativas. A presença dos radicais é crítica para a manutenção de muitas funções fisiológicas normais. Esses radicais livres e demais moléculas, que surgem em função das suas ações oxidativas nos sistemas biológicos, são conhecidos por ROS, sigla que traduzida, significa espécies reativas de oxigênio (PEREIRA, 1996; FERRARI; TORRES, 2003; WISEMAN, 2005).

A ocorrência de um estresse oxidativo moderado, freqüentemente é acompanhado do aumento das defesas antioxidantes enzimáticas, mas a produção de uma grande quantidade de radicais livres pode causar danos e morte celular. O cérebro é muito suscetível ao estresse oxidativo; pesando somente 2% da massa corporal, ele utiliza 20% do consumo de oxigênio total (LAU, SHUKITT-HALE ; JOSEPH, 2005).

2.1.1.2 Métodos para determinar a capacidade antioxidante de frutas

Diversos métodos vêm sendo desenvolvidos para determinar a atividade antioxidante de alimentos e sistemas biológicos. Entre os mais empregados estão: o

ORAC, método da capacidade de absorver o radical oxigênio; DPPH, método de seqüestro de radicais livres; e ABTS, também conhecido como método TEAC, capacidade antioxidante equivalente a Trolox.

Utilizando o método ORAC para avaliar a capacidade antioxidante de frutas consumidas nos Estados Unidos (Fig. 4), Wu et al. (2004) encontraram em morango, pêssago, amora-preta e mirtilo cultivado, respectivamente, 35,77; 18,63; 53,48 e 62,2 μ mol de TE/g de fruta.

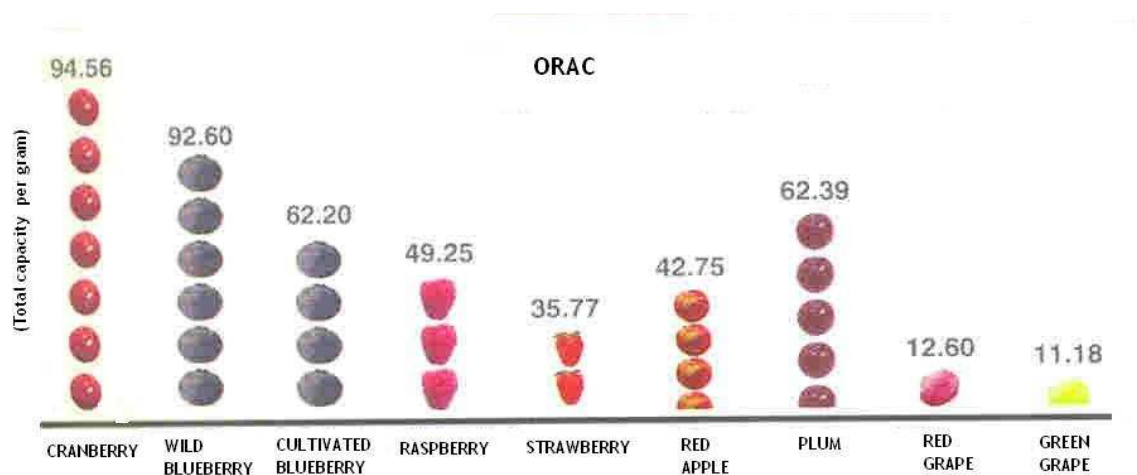


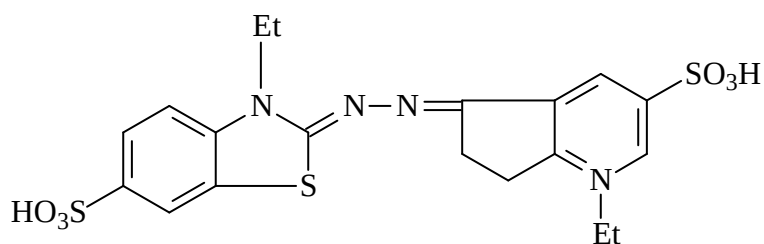
Figura 4 – Capacidade Antioxidante de algumas frutas medida pelo método ORAC.

Fonte: Food Technology (2006).

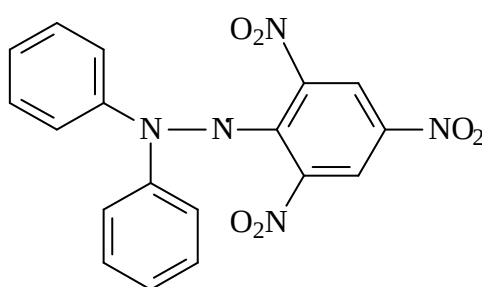
Os valores de ORAC para alimentos foram similares aos valores reportados usando outros métodos para medir capacidade antioxidante, como o TEAC (KALT et al. 2001).

Embora o método ORAC seja muito citado, a literatura apresenta outros métodos para a avaliação da capacidade antioxidante.

Considerados fáceis, rápidos e seguros, os métodos que envolvem o seqüestro de radicais livres, ABTS e DPPH, avaliam a capacidade antioxidante pelo mecanismo de transferência de elétrons (CAO ; PRIOR, 1999; SÁNCHEZ-MORENO, 2002).



ácido 2,2-azinobis(3-etilbenzotiazol-6-sulfônico)
(ABTS)



2,2-difenil-1-picril-hidrasila
(DPPH)

Figura 5 – Radicais Livres.

Fonte: PRIOR et al., 2005.

O radical livre estável DPPH[•] é violeta escuro e permanece estável na forma sólida durante anos. Mesmo suas soluções 10⁻⁵M podem ser medidas colorimetricamente e são usadas como indicador para revelar a presença de radicais (PRIOR,1970). O método baseia-se na capacidade de seqüestro de antioxidantes em torno do radical estável DPPH[•]. O radical DPPH[•] é reduzido a hidrazina correspondente quando reage com doadores de hidrogênio (AH) (BRAND-WILLIAMS; CUVELLIER ; BERSET,1995), conforme equação abaixo:



O mais freqüente uso dessa técnica é por espectrofotometria, que avalia o decréscimo na absorvância a 515-517nm, provocada pela adição de um antioxidante em uma solução metanólica de DPPH[·] (BONDET; BRAND-WILLIAMS; BERSSET, 1997).

O método envolvendo o radical cátion ABTS^{·+} baseia-se na inibição, por antioxidantes, da absorvância do ABTS^{·+}, que pode ser gerado de diversas formas. Re et al. (1999), desenvolveram uma técnica utilizando perssulfato de potássio adicionado a solução de ABTS, promovendo a geração direta do cromóforo ABTS^{·+} com coloração azul-esverdeada.

O mecanismo de reação frente à espécie antioxidante, de acordo com Henriquez e Lissi (2002) é semelhante àquele proposto para o DPPH[·] (Eq. 2.1):



2.1.2 Componentes Maiores

De acordo com os dados publicados pelo USDA (2006), o mirtilo apresenta teor de açúcares totais superior às demais frutas (9,96%). Entretanto, o pêssego apresenta a cada 100g de fruta, 9,54g de carboidratos (Fig.6), dos quais quase sua totalidade (8,39g) são açúcares. A sacarose é o principal açúcar constituinte do pêssego (4,76g/100g de fruta), enquanto que nas demais frutas, sua contribuição é menor que 1%. A frutose e a glicose encontram-se em teores muito próximos no mirtilo (4,97g e 4,88g/100g de fruta; respectivamente) e na amora-preta (2,40 e 2,31g/100g de fruta; respectivamente).

Esti et al. (1997) em estudo de identificação e quantificação de açúcares em pêssegos por CLAE, em 12 variedades italianas, relataram que os teores de sacarose dos frutos variaram de 4,3% a 9,8%; os de glicose de 0,4 % a 2,0 % e os de frutose 0,4 % a 3,4 %.

O ácido aspártico é o aminoácido de maior destaque no morango (0,149g/100g), assim como no pêssego, onde perfaz quase metade do teor de proteínas (Fig. 6), com 0,418g/100g (USDA, 2006).

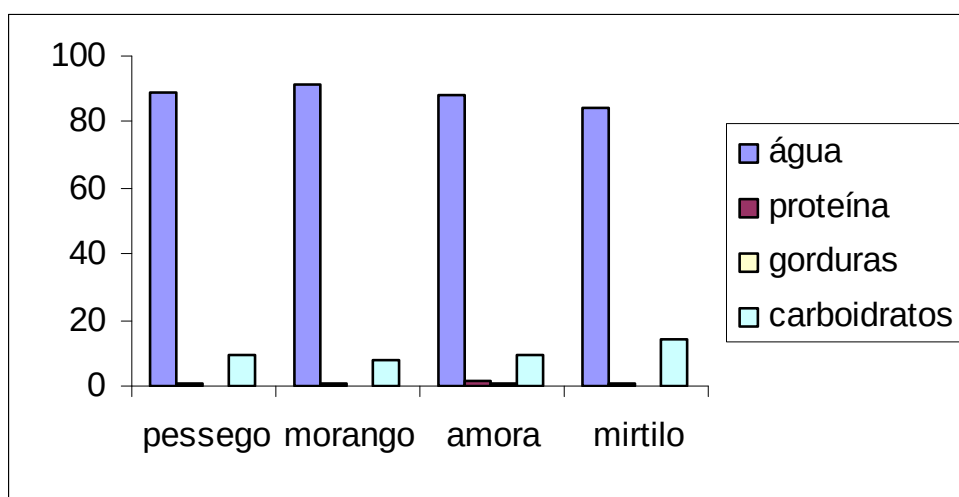


Figura 6 - Composição em macronutrientes de frutas de clima temperado.

Fonte: USDA (2006).

2.1.3 Componentes Menores

O morango apresenta maior teor de vitamina C, com 58,8mg em 100g de fruta, valor muito próximo ao da laranja (aproximadamente 66mg) (MAHAN; ESCOTT-STUMP, 1998). Para amora-preta, mirtilo e pêssego os valores de vitamina C em 100g de fruta são, respectivamente, 21mg; 9,7mg e 6,6mg. A amora-preta é rica em vitamina E, apresentando 1,17mg, de vitamina; seguida por pêssego com 0,73mg; mirtilo com 0,57mg e morango com 0,29mg por 100g de fruta. Com relação à vitamina A, o pêssego apresenta 326 UI, a amora-preta, 214UI; o mirtilo, 54UI e o morango 12UI (USDA, 2006).

Os ácidos málico, cítrico e quínico são os principais ácidos orgânicos encontrados em pêssegos. Os ácidos isocítrico e succínico estão presentes na forma de componentes traços (MEREDITH et al., 1989; WANG et al., 1993).

Micronutrientes	pêssego	morango	amora	mirtilo
Ca (mg/100g)	6	16	29	6
Fe (mg/100g)	0,25	0,41	0,62	0,28
Mg (mg/100g)	9	13	20	6
P (mg/100g)	20	24	22	12
K (mg/100g)	190	153	162	77
Na (mg/100g)	0	1	1	1
Zn (mg/100g)	0,17	0,14	0,53	0,16
Cu (mg/100g)	0,068	0,048	0,165	0,057
Mn (mg/100g)	0,061	0,386	0,646	0,336
Se (mcg/100g)	0,1	4,4	0,4	0,1
F (mcg/100g)	4	0,4	0	0

Figura 7 - Composição em micronutrientes de frutas de clima temperado.

Fonte: USDA (2006).

Açúcares, ácidos orgânicos, compostos fenólicos, carotenóides e compostos voláteis são os principais componentes do sabor da fruta (GIL et al., 2002).

Breve Histórico e Taxonomia das Frutas de Clima Temperado

2.1.4 Amora-Preta

A amora-preta é planta arbustiva de porte ereto ou rasteiro, pertencente à família *Rosaceae*, gênero *Rubus*, bastante rústica e de fácil manejo, de grande potencial para as regiões brasileiras com período de inverno marcante e propícia para pequenas propriedades agrícolas (SANTOS; RASEIRA; MADAIL,1997).

O cultivo da amora-preta começou na segunda metade do século XIX, nos Estados Unidos, onde é conhecida por '*blackberry*'. No Brasil, as primeiras plantas, provenientes da Universidade de Arkansas, foram introduzidas em 1972, no Centro de Pesquisa da Embrapa Clima Temperado, localizada em Pelotas – RS; apresentaram boa adaptação ao local, o que viabilizou sua expansão para os estados de Santa Catarina, Paraná, São Paulo e para o sul de Minas Gerais. Além das cultivares introduzidas, Brazos, Comanche e Cherokee, a Embrapa Clima Temperado desenvolveu um programa de melhoramento genético originando as seguintes cultivares: Ébano, Negrita, Tupi, Guarani, Caingangue e Xavante (SANTOS; RASEIRA; MADAIL,1997).

Dados de exportação da IBRAF(2006) revelam que o Brasil exportou, em 2005, 9.040 kg de amora-preta e framboesa, e importou, no mesmo período, cerca de 3,5t das frutas. Informações quanto à produção nacional de amora-preta não encontram-se disponíveis.

2.1.5 Mirtilo

O mirtilo, membro da família *Ericaceae*, subfamília *Vaccinoideae* e gênero *Vaccinium*, é uma espécie frutífera originária de algumas regiões da Europa e América do Norte, onde é denominado '*blueberry*' (RASEIRA,s.d.). É muito apreciado por seu sabor exótico, pelo valor econômico e por seus poderes medicinais como "fonte de longevidade" (HERTER & WREGE, s.d.).

A classificação simplificada do mirtilo é: "highbush" (arbusto alto); "lowbush" (arbusto baixo) e "rabbiteye" (olhos de coelho). Esta fruta, domesticada inteiramente no século XIX, desenvolveu um mercado mundial e foram iniciados programas de melhoramento na Holanda, Alemanha, Canadá, Irlanda, Itália, Finlândia, Iugoslávia, Inglaterra, Dinamarca e Escócia (RASEIRA et al., 2003).

Na Embrapa Clima Temperado, foram testadas as seguintes cultivares: Aliceblue, Bluebelle, Briteblue, Bluegem, Clímax, Delite, Florida, Powderblue, Woodard (RASEIRA , s.d.). Dados de caracterização destas cultivares encontram-se apresentados na tab. 1.

Tabela 1- Teor de sólidos solúveis totais e peso médio do fruto das cultivares de amora-preta da Embrapa Clima Temperado.

Cultivar	SST (°Brix)	Peso médio(g)
Alice Blue	11,3 - 11,8 *	1,5 - 1,8*
Blue Belle	11,5 *	1,0 – 1,3*
Brite Blue	9,2-11,3 *	1,3 – 1,6*
Bluegem	10,5-12,8 *	1,3*
Climax	10 – 12,4 *	1,8*
Delite	10,8 – 12,5*	1,2*
Florida	10,2**	1,3**
Powder Blue	11-11,7 *	1,2*
Woodard	12 – 13,9 *	1,2*

* Fonte: RASEIRA , s.d.

**Dados de caracterização da matéria-prima, não publicados.

Dados registrados pela Organização Mundial de Agricultura e Alimentação das Nações Unidas (FAO) indicam que, em dez anos, a produção mundial de mirtilo duplicou, passando de 105 mil toneladas em 1992 para 207 mil toneladas em 2002. De acordo com Madail e Santos (s.d.), os Estados Unidos detêm 50% da produção mundial da fruta, seguidos pelo Canadá, com 33% e pelo continente europeu com 16%, cabendo ao restante do mundo apenas 1% de participação no volume produzido em 2002. Os norte-americanos importam cerca de 82% da produção do restante do mundo. A Argentina produz hoje cerca de 380 t/ano, 74% dessa produção é destinada ao abastecimento dos Estados Unidos entre os meses de outubro e dezembro. O Chile produz cerca de 7.500t/ano, sendo o representante da América do Sul que mais exporta para o mercado norte-americano. No Brasil, o cultivo do mirtilo ainda encontra-se em fase de desenvolvimento. Os primeiros experimentos para a implantação do mirtilo no Brasil datam de 1983, através da Embrapa Clima Temperado (Pelotas – RS), que introduziu uma coleção de cultivares

oriundas da Universidade americana da Flórida, sendo que, a prática comercial iniciou em 1990 na cidade de Vacaria, RS.

Conforme dados do Instituto Brasileiro de Fruticultura (IBRAF,2006), em 2005 o Brasil exportou cerca de 2,3t de mirtilo, passando para 2,9 t em 2006.

2.1.6 Morango

O morango é uma rosácea do gênero *Fragaria* L., cuja espécie é *Fragaria x ananassa* Duch, apresenta alta taxa respiratória e curta vida pós-colheita, o que caracteriza-o como fruto não-climatérico. É originário da América do Norte e do Chile (SANTOS; MEDEIROS, 2003).

As cultivares Camarosa, Camino Real e Ventana são cultivares indicadas para consumo in natura e industrialização, por apresentarem sabor em equilíbrio doce-ácido, frutos grandes e coloração da epiderme vermelha-escura, com ótima aparência. A cv. Diamante possui frutos grandes, firmes e de excelente qualidade, sendo recomendada para consumo in natura. Entretanto, a coloração interna é vermelha-clara, não sendo adequada à industrialização (SANTOS; MEDEIROS, 2003).

A cultura comercial do morangueiro é relativamente nova, iniciando na década de 1950, na região da encosta da serra do sudeste do Rio Grande do Sul. Foi introduzida no sul de Minas Gerais por volta de 1958. A partir de 1960 expandiu-se para as demais regiões produtoras de morango mineiras (REICHERT; MADAIL,2003).

No Brasil, a cultura do morangueiro ocupa uma área estimada de 3.600 ha, com produção em torno de 90 mil toneladas por ano (Fig.8).

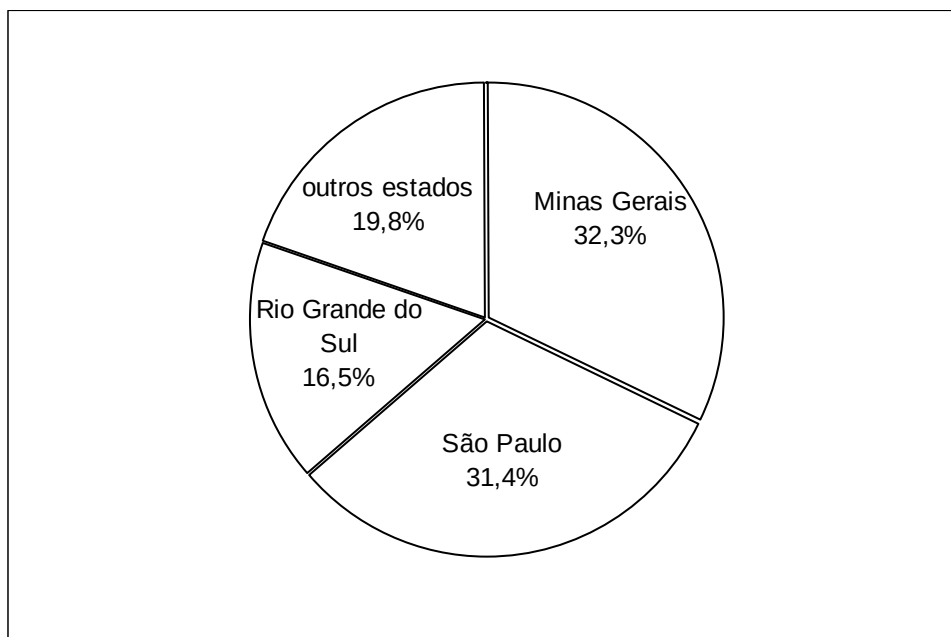


Figura 8 - Destaques na produção nacional de morangos da safra 1999.

Fonte: REICHERT; MADAIL, 2003.

No mercado externo, os países que se destacaram em produtividade em 2003 foram: Estados Unidos com mais de 1 milhão de toneladas, seguido de Espanha com quase 300 mil toneladas e Japão em terceiro lugar com pouco mais de 200 mil toneladas (AGRIANUAL, 2006). O volume de importação brasileira de morangos em 2004 atingiu 1.213Kg, aumentando expressivamente, no ano seguinte, para 7.684Kg de fruta (IBRAF, 2006).

2.1.7 Pêssego

O pessegueiro é uma espécie nativa da China que pertence à família Rosaceae. O pêssego é um fruto climatérico. Todas as cultivares comerciais pertencem à espécie *Prunus persica* (L.) Batsch, sendo admitidas três variedades botânicas: (a) vulgaris (pêssego comum); (b) nucipersica (nectarina); e (c) platicarpa (pêssego achatado). A grande maioria das cultivares brasileiras incluem-se na variedade vulgaris e amarelos com caroço-aderido (RASEIRA;CENTELLAS-QUEZADA, 2003).

Dentre as cultivares produtoras de fruto para consumo *in natura*, destacam-se a Chiripá, com película creme e até 30% de vermelho; e a cv. Coral, de polpa branca e película creme com até 60% de vermelho. Os teores de sólidos solúveis

totais encontram-se entre 15° e 20°Brix para a cv. Chiripá, e entre 13 e 16°Brix, para a Coral (RASEIRA ; NAKASU, 2003).

As cultivares com a finalidade para processamento estão listadas na tab.2.

Tabela 2 - Coloração da pele e teor de sólidos solúveis totais das cultivares de pêsego.

Cultivar	SST	Coloração da película
Ágata	11-13 °Brix	Amarelo-ouro e 25% vermelho
Diamante	12-15 °Brix	Amarelo e 20% de vermelho
Esmeralda	12-14 °Brix	Amarelo-escura
Jade	13-15 °Brix	Amarelo-ouro
Jubileu	12-16,6 °Brix	Amarelo e 20% vermelho

Fonte: RASEIRA; NAKASU,2003.

Dentre as cultivares com frutos para dupla finalidade, merecem destaque as cvs. Maciel, Leonense e Eldorado, que apresentam frutos de película amarela com até 20, 25 e 50% de vermelho, respectivamente. O conteúdo de sólidos solúveis totais oscila entre 15-17 °Brix para Eldorado, 11-16 °Brix para Maciel e 12-15 °Brix para Leonense (RASEIRA ; NAKASU,2003).

Segundo o IBRAF, a produção brasileira de pêsego em 2004 foi de 235.720 toneladas de fruta fresca, com área plantada em torno de 23.952 ha. Desse total, o Rio Grande do Sul contribuiu com 122.675t, seguido pelos estados de São Paulo (47.330 t), Santa Catarina (33.352t), Paraná (17.863t) e Minas Gerais (14.411t).

Além do consumo in natura, o consumo de pêsego em conserva apresenta grande destaque, situando-se entre 50 e 60 milhões de latas de 1 kg por ano. Portanto, para atender a demanda interna, têm se importado pêsegos in natura da Argentina e do Chile e pêsegos em conserva da Grécia (NAKASU,2003). Em 2004, o volume de importação de pêsegos foi em torno de 3,7mil toneladas de fruta fresca, aumentando expressivamente o valor em 2005, com 7.067.968Kg (IBRAF,2006).

3 MATERIAIS E MÉTODOS

A caracterização química dos frutos de amora-preta, mirtilo, morango e pêssago foi efetuada no Laboratório de Tecnologia de Alimentos da Embrapa Clima Temperado.

Delineamento Experimental para Tomada de Amostra

O experimento constou de 96 amostras decorrentes de delineamento casualizado entre 32 amostras (11cv.pêssego + 4cv. morango + 9cv.mirtilo + 8cv.amora preta) com 3 blocos, avaliando-se o teor de antocianinas, fenóis totais e atividade antioxidante pelos métodos TEAC-DPPH e TEAC-ABTS, com 3 repetições, e resultando em 1152 determinações, conforme o quadro 1.

Quadro 1- Delineamento Experimental

Variáveis Dependentes			Variáveis Independentes
Fruta	Cv.	Amostra	Avaliações
Morango	Camino Real	1	ANTOCIANINAS FENÓIS TOTAIS TEAC – DPPH TEAC – ABTS
	Ventana	2	
	Diamante	3	
	Camarosa	.	
		12	
Amora-Preta	Caingangue	13	
	Cherokee	.	
	Comanche	.	
	Choctaw	.	
	Guarani	.	
	Tupi	.	
	Brazos	.	
	Xavante	36	
Mirtilo	BlueBelle	37	
	Bluegem	.	
	Clímax	.	
	Woodard	.	
	Alice Blue	.	
	Powder Blue	.	
	Brite Blue	.	
	Florida	.	
	Delite	.	
		63	
Pêssego	Jade	64	
	Maciel	.	
	Leonense	.	
	Eldorado	.	
	Coral	.	
	Ametista	.	
	Ágata	.	
	Chiripá	.	
	Esmeralda	.	
	Sensação	.	
	Olímpia	.	
		96	

3.1.1 Processamento de Amostragem

Foram utilizados frutos de amora-preta (cvs. Comanche, Cherokee, Chocktaw, Caingangue, Tupi, Guarani e Xavante); mirtilo (cvs. Alice Blue, Blue Belle, Bluegem, Powder Blue, Brite Blue, Delite, Florida, Clímax e Woodard); morango (cvs. Camino Real, Camarosa, Diamante e Ventana) e pêssgo (cvs. Ágata, Coral, Chiripá, Diamante, Eldorado, Esmeralda, Jade, Jubileu, Leonense e Maciel) da safra 2005/2006, provenientes do Programa de Melhoramento Genético da Embrapa Clima Temperado de Pelotas-RS. Seleccionaram-se frutas sem defeitos e de aspecto maduro, as quais foram imediatamente congeladas por submersão em nitrogênio líquido e armazenadas em congelador com temperatura em torno de -18°C até o momento da realização das avaliações.

O preparo das amostras para as avaliações foi realizado como segue. As frutas foram moídas em um triturador centrífugo Walita; posteriormente, o suco obtido foi submetido à centrifugação de 12.000g por 30 minutos a 4°C em uma centrífuga Avanti j-25 (Beckman Instrument Inc., Fullerton, Calif., U.S.A). O sobrenadante obtido da centrifugação foi filtrado através de papel Whatman nº 26, e distribuído em tubos de 10 mL, do qual foram removidas as alíquotas para as avaliações desenvolvidas em duplicata.

3.1.2 Avaliações

O teor de fenóis totais do suco extraído das frutas foi determinado segundo o método de Singleton e Rossi (1965). Uma alíquota de 1mL de suco foi recolhida em um balão volumétrico de 250mL, no qual adicionou-se 60mL de água deionizada e 5mL de Folin-ciocalteau. Após, deixou-se o meio reacional em repouso por 8 minutos e 20mL de carbonato de sódio a 20% foi adicionado. Completou-se o volume com água deionizada. Após 2 horas em repouso, uma alíquota do meio reacional foi retirada para medir a absorbância em espectrofotômetro à 725nm e os resultados foram expressos em μmol de ácido gálico por grama de fruta, $\mu\text{mol.g}^{-1}$ GAE, conforme curva padrão.

O teor de antocianinas do suco foi determinado pelo método de Lees e Francis (1972). Recolheu-se cerca de 1g de suco em um béquer de 100mL, no qual adicionou-se 25mL de etanol pH1,0. a mistura permaneceu sob agitação por 1 hora e logo após, filtrou-se com papel Whatman nº 26 e transferido para balão volumétrico de 50mL, completando o volume com etanol pH 1,0. Uma alíquota da

mistura foi retirada para medida da absorbância em espectrofotômetro à 520nm. Os resultados foram expressos em mg de antocianinas em 100g de fruta. A capacidade antioxidante foi avaliada pelos métodos DPPH (capacidade antioxidante relativa a 30') e ABTS, segundo Ozgen et al.(2006), e está descrito no item 3.1.2.3.

3.1.2.1 Reagentes e Padrões

ABTS^{•+}-2,2-azinobis-(ácido 3-benzotiazol-6-sulfônico) (Fluka); DPPH[•]-2,2-difenil-1-picrilhidrasila (Sigma); TROLOX -ácido 6-hidróxi-2,5,7,8-tetrametilcroman-2-carboxílico (Sigma-Aldrich); ácido gálico e ácido ascórbico (Aldrich).

3.1.2.2 Construção da curva-padrão

Preparou-se uma curva-padrão para o Trolox a partir de uma solução de 3 mM, da qual prepararam-se soluções padrões de 0 – 0,1 – 0,5 – 1,0 – 2 – 3 mM. A cada alíquota de 20 µL, tomada das soluções padrão, adicionou-se 3,0 mL de DPPH. Para a construção da curva padrão trolox usando ABTS como radical livre, utilizou-se o mesmo procedimento. As leituras foram efetuadas em absorbância (A) a 515 nm para DPPH e 734 nm para ABTS contra um branco, usando espectrofotômetro Genesys 10 UV/VIS.

O comportamento linear dos dados foi investigado através da Lei de Beer (SKOOG et al., 2006), sendo que o coeficiente de absorvidade molar (ϵ) foi determinado a partir da inclinação da curva-padrão, de acordo com Equação 1:

$$A = \epsilon.C.l \quad (1)$$

onde A é a absorbância,

ϵ é coeficiente de absorção molar $L.mol^{-1}.cm^{-1}$,

C é concentração $mol.L^{-1}$, e

l é caminho óptico em cm.

3.1.2.3 Determinação da Capacidade Antioxidante

A atividade sequêstrante de radicais livres das frutas foi determinada a partir da curvas padrões Trolox-DPPH e Trolox-ABTS, sendo denominada como Capacidade Antioxidante Equivalente a Trolox, TEAC, para o método ABTS e Capacidade Antioxidante Equivalente a Trolox Relativa, para o método DPPH. Alíquotas de 20µl do suco extraído das amostras, foram adicionados a 3 mL da solução do radical livre (DPPH e ABTS). Para a obtenção do branco utilizou-se 20µl de metanol no lugar da alíquota do suco. Após 30 minutos, fez-se a leitura da absorbância e os valores encontrados foram calculados de acordo com as Equações 2 e 3:

$$TEAC_{DPPH \text{ relativa}} = [5,0389 \cdot (A_B - A_A) + 0,0643] \cdot v / m \cdot 10 \quad (2)$$

$$TEAC_{ABTS} = [4,5848 \cdot (A_B - A_A) - 0,0151] \cdot v / m \cdot 10 \quad (3)$$

onde, A_B é a absorbância do branco,

A_A é a absorbância da amostra,

v é o volume de centrifugado em mL e

m é a massa de amostra em g.

Os valores de TEAC para ambos os casos foram expressos em µmol de Trolox por grama de fruta, µmol.g⁻¹ TE.

Procedimento Estatístico

Os coeficientes de regressão foram estimados por regressão linear usando o software STATISTICA (Statsoft, 1998). Para a comparação das médias, foi utilizado o teste de Tukey ($p \leq 0,05$). Quando aplicável, os resultados foram correlacionados ($p \leq 0,05$).

4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

Curva Padrão Trolox-ABTS e Trolox-DPPH

As concentrações de Trolox em ABTS e DPPH foram determinadas aplicando-se a Lei de Beer. A constante de proporcionalidade – absortividade molar (ϵ) – entre a absorbância e a concentração de trolox em ABTS e DPPH foi calculada por regressão linear (Tab. 3). O modelo da Lei de Beer foi estatisticamente significativo em ambos os casos ($p \leq 0,01$).

Tabela 3- Absortividade molar do Trolox em ABTS e DPPH.

Radical	$\epsilon \cdot 10^{-3}$ (L.mol ⁻¹ .cm ⁻¹) ^a	R ²
ABTS	0,219 ± 0,004 ^{**}	0,999
DPPH	0,188 ± 0,01 ^{**}	0,996

^avalor ± intervalo de confiança a $p=0.05$.

^{**}Significativo ($p \leq 0,01$).

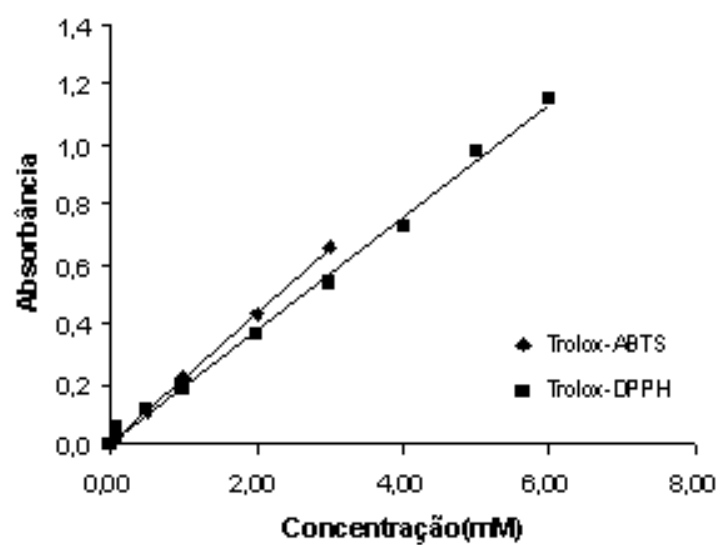


Figura 9 - Curva padrão Trolox-ABTS e Trolox-DPPH.

Fenóis totais, Antocianinas e Capacidade Antioxidante

Na tab. 4, encontram-se listados os resultados para os teores de antocianinas, fenóis totais e capacidade antioxidante (TEACrelativa- DPPH e TEAC-ABTS) encontrados nas quatro cultivares de morango.

Para o teor de antocianinas, não foi verificada diferença significativa entre Diamante ($40,27\text{mg}\cdot 100\text{g}^{-1}$), Camino Real ($41,71\text{mg}\cdot 100\text{g}^{-1}$) e Camarosa ($48,32\text{mg}\cdot 100\text{g}^{-1}$), sendo que a cultivar Ventana ($24,98\text{mg}\cdot 100\text{g}^{-1}$) foi significativamente inferior às demais. Castro et al. (2002) relataram $48,2\text{mg}\cdot 100\text{g}^{-1}$ para a cv. Camarosa. Recentemente, Silva et al. (2007) obtiveram resultados entre 20 e $60\text{mg}\cdot 100\text{g}^{-1}$ para cinco cultivares de morango, entre elas a cv. Camarosa.

Quanto ao teor de fenóis, a cultivar Diamante ($1.301,09\mu\text{g}\cdot \text{g}^{-1}$) foi significativamente superior às demais ($p \leq 0,05$). Kalt et al. (1999) relataram $864,2\mu\text{g}\cdot \text{g}^{-1}$ para a cv. canadense Kent, próximo ao encontrado para a cv. Camarosa ($872,75\mu\text{g}\cdot \text{g}^{-1}$). Ayala-Zavala et al. (2004) e Zheng et al. (2007) relataram, respectivamente, $3.500\mu\text{g}\cdot \text{g}^{-1}$ para a cv. Chandler e $1200\mu\text{g}\cdot \text{g}^{-1}$ para a cv. Allstar, ambas americanas.

A atividade antioxidante apresentada pela cv. Diamante foi significativamente superior às demais cultivares com $7,72\mu\text{mol}\cdot \text{g}^{-1}$ como TEACrelativa-DPPH e $10,43\mu\text{mol}\cdot \text{g}^{-1}$ como TEAC-ABTS. Ozgen et al. (2006), utilizando os mesmos métodos, encontraram em morangos da cv. americana Honeoye $15,9\mu\text{mol}\cdot \text{g}^{-1}$ como TEAC-DPPH e $11,5\mu\text{mol}\cdot \text{g}^{-1}$ como TEAC-ABTS, respectivamente. Wang e Lin (2000), trabalhando com diferentes cvs. de morango e também usando o método ORAC, relataram capacidade antioxidante variando de 12,2 a $17,4\mu\text{mol}\cdot \text{g}^{-1}\cdot \text{TE}$. Posteriormente, Zheng et al. (2007), obtiveram $10,63\mu\text{mol}\cdot \text{g}^{-1}$ para a cv. Allstar, utilizando o mesmo método.

Tabela 4 - Características químicas dos extratos obtidos de quatro cultivares de morango . Pelotas – RS, safra 2006.

Cultivares	Antocianinas (mg.100g ⁻¹)	Fenóis (μg.g ⁻¹ GAE)	TEACrelativa- DPPH (μmols.g ⁻¹ TE)	TEAC-ABTS (μmols.g ⁻¹ TE)
Camino Real	41,71 a	910,72 bc	5,49 b	7,89 b
Ventana	24,98 b	980,81 b	5,80 b	7,80 b
Diamante	40,27 a	1301,09 a	7,72 a	10,43 a
Camarosa	48,32 a	872,75 c	5,17 b	6,79 b

*Médias seguidas pelas mesmas letras diferem entre si pelo Teste de Tukey ($p \leq 0,05$).

Na tabela 5, estão apresentados os resultados encontrados para as características químicas avaliadas nas cultivares de amora-preta.

Quanto ao teor de antocianinas, a cv. Guarani (158,21mg.100g⁻¹) apresentou resultado superior às demais cultivares, seguida pela cultivar Brazos com 146,70mg.100g⁻¹. Os valores encontrados por Reyes-Carmona et al.(2005) variaram entre 800 e 1050mg.100g⁻¹ para a cv. Brazos, 960 mg.100g⁻¹ para a cv. Tupi e 820 mg.100g⁻¹ para a cv. Comanche, sendo estes valores superiores aos encontrados neste trabalho, entretanto, o método utilizado pelos autores, para extração do pigmento é mais sensível do que o método proposto por Lees e Francis (1972).

Além de possuir, em valores absolutos, o maior teor de antocianinas, a cv. Guarani destacou-se com o mais elevado conteúdo de fenóis (1381,4μg de GAE .g⁻¹), sendo significativamente diferente das cvs. Cherokee e Choctaw, que apresentaram os teores mais baixos para fenóis, antocianinas e capacidade antioxidante. Segundo Wang e Lin (2000), o conteúdo de antocianinas da cv. Earliglow foi 45,3mg.100g⁻¹ e de fenóis totais foi 1.520 μg de GAE.g⁻¹ de fruta. Plessi et al. (2007) encontraram, para seis cultivares de amora-preta estudadas, um conteúdo médio de 98mg.100g⁻¹ de antocianinas.

Quanto à capacidade antioxidante, destacaram-se positivamente as cultivares Xavante (13,22 e 16,52 μmols.g⁻¹ TE), Guarani (12,03 e 14,45 μmols.g⁻¹ TE) e Brazos (11,48 e 13,44 μmols.g⁻¹ TE), para os métodos TEACrelativa-DPPH e 16,52μmol. g⁻¹ e TEAC-ABTS. Por este segundo método, pôde-se destacar também as cultivares Caingangue (13,59 μmols.g⁻¹ TE) e Comanche (13,91 μmols.g⁻¹ TE)

como similares às três já citadas. A cultivar Tupi apresentou comportamento intermediário, enquanto que as cultivares Chocktaw e Cherokee evidenciaram tendência de comportamento inferior. Ozgen et al. (2006) encontraram valores para TEAC-DPPH e TEAC-ABTS, iguais a 35 e 19,2 $\mu\text{mols.g}^{-1}$ TE, respectivamente, na cultivar Chester. Wang & Lin (2000) encontraram valores que variaram de 13,7 a 28,8 μmol de TE por grama de amora-preta, pelo método ORAC, sendo que o valor mais alto foi referente à cv. Earliglow.

Tabela 5 - Características químicas dos extratos obtidos de amora-preta. Pelotas – RS, safra 2005.

Cultivares	Antocianinas (mg.100g ⁻¹)	Fenóis ($\mu\text{g.g}^{-1}$ GAE)	TEACrelativa- DPPH ($\mu\text{mols.g}^{-1}$ TE)	TEAC-ABTS ($\mu\text{mols.g}^{-1}$ TE)
Caingangue	120,90 abc	1168,90 ab	10,23 bc	13,59 ab
Cherokee	97,64 c	790,00 b	7,36 cd	8,03 c
Comanche	120,67 abc	980,56 ab	10,09 bc	13,91 ab
Chocktaw	83,61 c	793,65 b	7,06 d	8,61 c
Guarani	158,21 a	1381,40 a	12,03 ab	14,45 ab
Tupi	104,88 bc	927,27 ab	9,89 bcd	11,98 bc
Brazos	146,70 ab	1071,10 ab	11,48 ab	13,44 ab
Xavante	130,17 abc	1269,70 ab	13,22 a	16,52 a

*Médias seguidas pelas mesmas letras diferem entre si pelo Teste de Tukey ($p \leq 0,05$).

Os resultados obtidos para as cultivares de mirtilo para os teores de antocianinas, fenóis totais e capacidade antioxidante (TEAC-DPPH e TEAC-ABTS) encontram-se na tab. 6.

Quanto ao teor de antocianinas, a cv. Bluegem, apresentou maior teor de antocianinas (28,18mg.100g⁻¹), seguido pela cv. Blue Belle (15,8mg.100g⁻¹). A cultivar Alice Blue (3,14mg.100g⁻¹) foi significativamente inferior às duas já citadas, não diferindo das demais. Os teores de antocianinas encontrados são bem inferiores aos valores relatados na literatura, 179mg.100g⁻¹ e 136mg.100g⁻¹ (EHLENFELDT; PRIOR, 2001; STOJANOVIC; SILVA, 2007). Segundo Prior et al. (1998) as antocianinas estão concentradas na casca do mirtilo.

Em função dos resultados obtidos, pode-se entender que o método utilizado para extração das amostras promove muitas perdas da casca, pelo uso do triturador, além da diluição do pigmento, pois o extrato é formado pela casca + polpa, resultando em baixo teor de antocianinas. Esse fato não ocorre com morango e amora-preta, visto que as duas frutas possuem antocianinas distribuídas por todo o fruto.

Quanto à capacidade antioxidante, a cv. Blue Belle destacou-se positivamente em ambos métodos, com 7,26 e 7,28 $\mu\text{mols.g}^{-1}$ TE, respectivamente para TEAC-DPPH e TEAC-ABTS. Por outro lado, de modo semelhante ao que ocorreu com antocianinas, a cv. Alice Blue contribuiu com os valores mais baixos para a capacidade antioxidante, 4,3 $\mu\text{mols.g}^{-1}$ TE para TEAC-DPPH e 3,24 $\mu\text{mols.g}^{-1}$ TE para TEAC-ABTS.

Empregando a mesma metodologia, Faria et al. (2005) estudaram o potencial antioxidante de extrato de mirtilo, e obtiveram como resultado 5,36 $\mu\text{mols.g}^{-1}$ TE e teor de fenóis igual a 257,9 $\mu\text{g.g}^{-1}$ GAE.

Utilizando o método ORAC, Ehlenfeldt e Prior (2001) relataram um valor médio de 15,9 $\mu\text{mols.g}^{-1}$ TE para as cvs. americanas de mirtilo. Além da capacidade antioxidante, o conteúdo de antocianinas e fenóis também foram avaliados, com resultados iguais a 179 mg.100g^{-1} e 950 $\mu\text{g.g}^{-1}$ GAE, respectivamente.

Em recente trabalho, Stojanovic e Silva (2007) encontraram 136 mg.100g^{-1} de antocianinas e 5500 $\mu\text{g.g}^{-1}$ GAE de fenóis, para mirtilo.

Tabela 6 - Características químicas dos extratos obtidos de mirtilo. Pelotas – RS, safra 2005.

Cultivares	Antocianinas (mg.100g ⁻¹)	Fenóis (μg.g ⁻¹ GAE)	TEACrelativa- DPPH (μmols.g ⁻¹ TE)	TEAC-ABTS (μmols.g ⁻¹ TE)
BlueBelle	15,80 b	721,37 a	7,26 a	7,28 a
Bluegem	28,18 a	635,4 ab	5,27 bcd	4,54 ab
Clímax	12,07 bc	537,12 b	4,50 cd	5,46 ab
Woodard	6,09 bc	708,72 a	4,76 bcd	5,04 ab
Delite	8,71 bc	705,53 a	5,98 ab	4,11 ab
Alice Blue	3,14 c	541,5 b	4,30 d	3,24 b
Powder Blue	13,62 bc	697,02 a	5,93 abc	5,47 ab
Brite Blue	13,61bc	644,70 ab	4,81 bcd	4,31 ab
Florida	12,26 bc	553,18 b	4,50 cd	3,64 ab

*Médias seguidas pelas mesmas letras diferem entre si pelo Teste de Tukey ($p \leq 0,05$).

Na tab. 7, encontram-se os resultados obtidos para as cvs. de pêssgo avaliadas quanto aos teores de antocianinas, fenóis totais e capacidade antioxidante (TEAC-DPPH e TEAC-ABTS).

Apesar de não ter sido detectada a presença de antocianinas em pêssgo, estas já foram identificadas e quantificadas, utilizando CLAE-DAD-ESIMS por Tomás-Barberán et al. (2001). Neste estudo, os autores observaram a presença de antocianinas quase que exclusivamente na pele, com valores entre 4,9mg.100g⁻¹ e 32,1mg.100g⁻¹, enquanto que na polpa quando identificados, não ultrapassaram 2,3mg.100g⁻¹. Posteriormente, resultados semelhantes foram encontrados por Gil et al (2002).

Conforme foi discutido para mirtilo, pode-se inferir que houve perdas de pigmento (principalmente da pele) no preparo das amostras (tritador + centrífuga) para obtenção do extrato onde foram realizadas as avaliações. Um outra explicação para esse fato, pode estar relacionado a pouca sensibilidade do método de Lees e Francis(1972), que pode não ter detectado quantidades tão pequenas quanto as encontradas no experimento citado no parágrafo anterior.

A cv. Maciel, com intermediário teor de fenóis ($855,67\mu\text{g.g}^{-1}$), exibiu a mais elevada capacidade antioxidante, analisando-se conjuntamente TEAC-ABTS ($3,14\mu\text{mols.g}^{-1}$) e TEAC-DPPH ($2,38\mu\text{mols.g}^{-1}$). Quanto ao teor de fenóis, embora apresentando a maior média, a cv. Leonense foi similar às cvs. Maciel, Eldorado, Ágata, Chiripá e Olímpia; e superior às cvs. Coral, Sensação, Ametista, Jade e Esmeralda (tab. 7). Toralles et al. (2005), trabalhando com oito cultivares de pêssego da safra 2003/04, observaram que o incremento no teor de fenóis, de um modo geral, acompanhou o ciclo de colheita; as cvs. Magno ($1180,2\mu\text{g.g}^{-1}$) e BR-6 ($1169,1\mu\text{g.g}^{-1}$) foram significativamente superiores às demais.

As cvs. Leonense, Coral, Chiripá e Esmeralda apresentaram a menor capacidade antioxidante, sendo que as cvs. Coral e Chiripá são de polpa branca. Gil et al. (2002), observaram que as cultivares de pêssego de polpa amarela, demonstraram em geral, atividade antioxidante maior do que as cultivares de polpa branca.

Tabela 7 - Características químicas dos extratos obtidos de pêssgo. Pelotas – RS, safra 2005.

Cultivares	Antocianinas (mg.100 ⁻¹)	Fenóis (μg.g ⁻¹ GAE)	TEACrelativa- DPPH (μmols.g ⁻¹ TE)	TEAC-ABTS (μmols.g ⁻¹ TE)
Jade	n.d.	436,50 de	1,23 cd	2,42 bc
Maciel	n.d.	855,67 abc	2,38 a	3,14 a
Leonense	n.d.	942,35 a	0,69 e	1,66 defg
Eldorado	n.d.	925,46 ab	1,08 d	2,30 bcd
Coral	n.d.	665,94 bcd	0,69 e	1,42 efg
Ametista	n.d.	606,82 bcd	1,43 bc	2,78 ab
Ágata	n.d.	864,90 abc	1,05 d	2,05 cde
Chiripá	n.d.	691,44 abcd	0,60 e	1,19 fg
Esmeralda	n.d.	303,64 e	0,62 e	1,03 g
Sensação	n.d.	659,07 bcd	1,17 cd	1,70 def
Olímpia	n.d.	869,83 abc	1,28 bcd	1,70 def

*Médias seguidas pelas mesmas letras diferem entre si pelo Teste de Tukey ($p \leq 0,05$).

**n.d. significa, não detectado.

Correlação entre os Constituintes da Fruta e a Capacidade Antioxidante

Os coeficientes de correlação calculados para os componentes fenólicos e o poder antioxidante (TEAC-DPPH) das frutas estudadas encontram-se na tab. 8.

O teor de fenóis totais correlacionou-se significativamente com o poder antioxidante, para amora-preta e morango. Resultados semelhantes foram encontrados por Cheel et al.(2007) em morango e por Jiao e Wang (2000) e Reyes-Carmona et al.(2005) em amora-preta. Por outro lado, não houve correlação significativa entre teor de fenóis totais e poder antioxidante para mirtilo e pêssgo. Amakura et al.(2000) também encontrou baixa correlação entre o poder antioxidante-DPPH e fenóis totais para mirtilo. Gil et al.(2002) encontraram em pêssgos, correlação entre fenóis e poder antioxidante na pele (0,89) maior do que na polpa (0,87). Dentre as frutas estudadas, o teor de antocianinas correlacionou-se significativamente com a capacidade antioxidante pelo método DPPH apenas para

amora-preta. Para o pêssego, como não foi detectada a presença de antocianinas, não se obteve dados de correlação.

Tabela 8 - Coeficientes de correlação entre poder antioxidante (TEAC-DPPH) e os componentes fenólicos das frutas.

Fruta	Componentes Fenólicos x TEAC-DPPH	
	Fenóis Totais	Antocianinas
Amora-Preta	0,84*	0,6564*
Mirtilo	0,59	0,254
Morango	0,89*	-0,0529
Pêssego	0,26	-

*significativo a $p \leq 0,05$ e $n = 24$, para amora-preta; $n=27$ para mirtilo; $n=12$ para morango e $n=33$ para pêssego.

O entendimento da contribuição dos compostos fenólicos para a capacidade antioxidante de diferentes espécies de frutas ainda é muito frágil e incipiente. Arnous, Makris e Kefalas (2001) e Lee et al. (2003) sugeriram que a expressão da atividade antioxidante se dá em consequência de um sinergismo entre vários compostos fenólicos e não pode ser atribuído especificamente a um constituinte.

A relação entre os constituintes das frutas e a capacidade antioxidante já foi citados em *Vaccinium sp.* (PRIOR et al., 1998), pequenas frutas (AMAKURA et al., 2000; WU et al., 2004), vinhos tintos envelhecidos (ARNOUS, MAKRIS ; KEFALAS, 2001), cacau (LEE et al., 2003), erva-mate (BRAVO; GOYA; LECUMBERRI, 2006), goiaba (THAIPONG et al., 2006) e frutas tropicais (KUSKOSKI, 2006) .

A precisa relação dessas interações necessita de investigações que identifiquem qual grupamento fenólico é responsável por exercer poder antioxidante em uma determinada fruta. Trabalhos mais recentes vêm traçando um perfil de antocianinas e fenólicos que contribuem para a capacidade antioxidante, através da quantificação e identificação dos mesmos (NAKAJIMA et al., 2004; MUÑOS-ESPADA et al., 2004; RUBERTO et al., 2007).

Fukumoto e Mazza (2000) avaliaram a atividade antioxidante de compostos fenólicos e concluíram que a atividade antioxidante cresce, com o aumento no número de grupamentos hidroxila e diminuição de grupos glicosilados.

Burda e Oleszek (2001) estudaram a relação entre a estrutura de 42 flavonóides e suas atividades antioxidantes e, observaram que apenas as

antocianinas com grupo hidroxila livre na posição C-3, mostraram alta habilidade em seqüestrar radicais DPPH.

Correlação entre os Métodos DPPH e ABTS

A fig.10 ilustra a elevada correlação existente entre os métodos de avaliação da capacidade antioxidante, DPPH e ABTS ($r=0,96513$), o que permite inferir que existe proporcionalidade entre os dois métodos, podendo-se optar pelo uso de apenas um deles. Leong e Shui (2002) trabalhando com onze frutas, entre elas morango, obtiveram uma alta correlação entre os métodos ABTS e DPPH ($r=0,9045$). A correlação encontrada por Seeram et al. (2006) entre ORAC e ABTS em chá verde foi próxima aos valores reportados neste trabalho ($r=0,98$). Em extratos de plantas medicinais, a correlação observada entre os métodos ABTS e DPPH por Miliauskas et al. (2004) foi igual a 0,83.

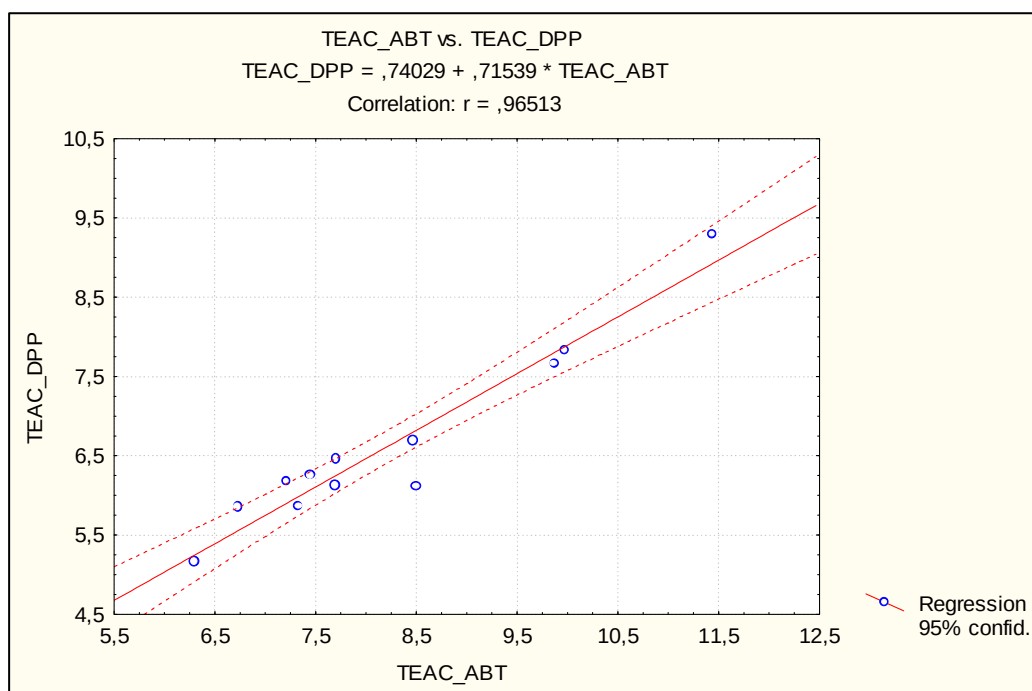


Figura 10 - Correlação entre os métodos TEAC-ABTS e TEAC-DPPH para morango.

Comparação entre os Compostos Fenólicos e a Capacidade Antioxidante de Diferentes Alimentos

Comparando as frutas quanto à sua capacidade antioxidante (Fig. 11), pode-se observar que a amora-preta destacou-se com maior teor de antocianinas e capacidade antioxidante, enquanto o morango apresentou maior teor de fenóis, seguido de perto pela amora-preta. O pêssago, embora tenha apresentado teor de fenóis superior ao do mirtilo, demonstrou capacidade antioxidante inferior a esse.

O mirtilo e o morango apresentaram poder antioxidante semelhante, apesar de terem sido detectados teores de antocianinas e de fenóis totais superiores no morango. Essas observações, aliadas ao observado na tabelas 8, sugerem que o poder antioxidante estaria relacionado não só com os conteúdos totais dos componentes, mas com a composição dos mesmos, reforçando o que já haviam manifestado outros autores (NAKAJIMA et al., 2004; MUÑOS-ESPADA et al., 2004; RUBERTO et al., 2007).

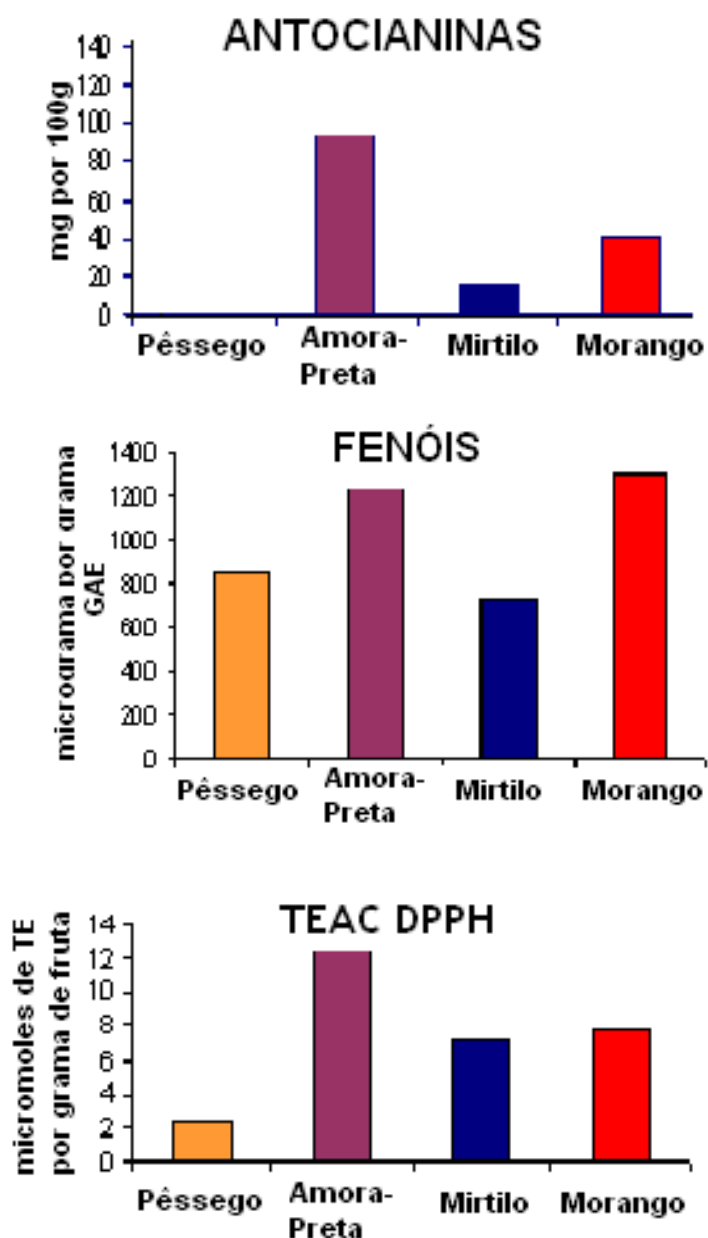


Figura 11- Comparação entre as cultivares que tiveram melhor desempenho como antioxidantes das frutas avaliadas.

Para efeito de comparação do comportamento, quanto à capacidade antioxidante das frutas estudadas e outros alimentos, confeccionou-se o gráfico abaixo, tomando-se como base o vinho branco, vinho tinto e suco de romã (Gil et al., 2002). Observa-se que a amora-preta apresentou capacidade antioxidante superior às demais frutas e ao vinho branco, muito próxima ao vinho tinto e inferior ao suco de romã.

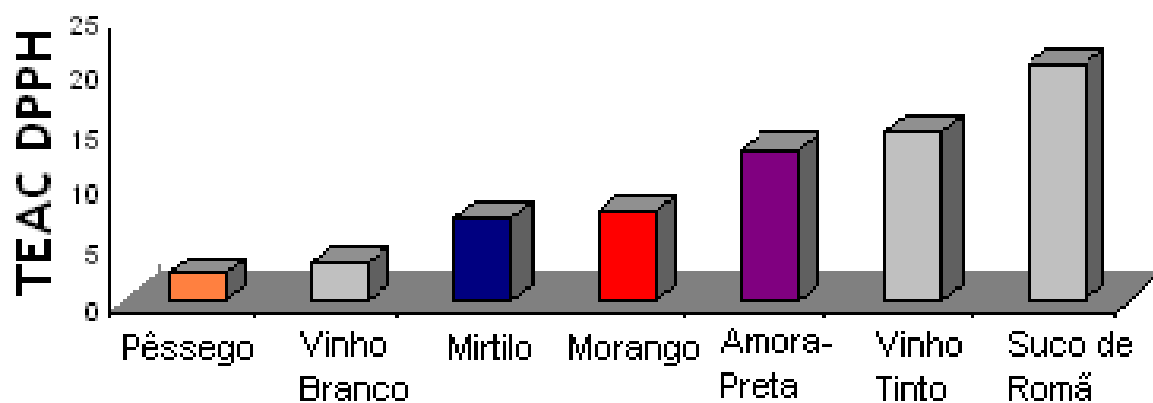


Figura 12- Comparação entre a capacidade antioxidante das frutas avaliadas e alimentos que contém alta capacidade antioxidante.

5 CONCLUSÃO

Para todas as frutas estudadas ocorreu grande variabilidade nos teores de antocianinas e fenóis totais, assim como no poder antioxidante, destacando-se positivamente as cultivares Diamante para morango, Xavante para amora-preta, Blue Belle para mirtilo e Maciel para pêssago. Sendo que a cv. Xavante apresentou capacidade antioxidante superior às demais. Houve alta correlação entre a capacidade antioxidante e fenóis totais para morango e amora-preta, e apenas a amora-preta apresentou correlação entre antocianinas e capacidade antioxidante.

6 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

KING,A.; YOUNG, G. Characteristics and occurrence of phenolic phytochemicals. **Journal of American Diet. Association**, v.99,p.213-218,1999.

GALATI, G.; O' BRIEN,P.J. Potencial toxicity of flavonoids and other dietary phenolics: significance for their chemopreventive and anticancer properties. **Free Radical Biology & Medicine**. V.37 ,n.3, p.287-303, 2004.

HOUSTON, M.C. Nutraceuticals, vitamins, antioxidants, and minerals in the prevention and treatment of hypertension. **Progress in cardiovascular diseases**, v.47, n.6, p.396-449,2005.

BURDA, S.; OLESZEK, W. Antioxidant and antiradical activities of flavonoids, **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v.49, p.2774-2779, 2001.

SKREDE,G.; WROLSTAD, R.E. Flavonoids from berries and grapes. **Functional Foods: Biochemical and Processing Aspects**.Chapter 3, v.2, CRC Press LLC.2002.Disponível on line em:< http://lab.ac.ntu.edu.tw/cereal/Course_Download/. >

GRAMZA,A.; KORCZAK,J. Tea constituents (*Camelia sinensis* L.) as antioxidant in lipid systems. **Trends in Food Science & Technology**. V.16, p.351-358, 2005.

NAKAJIMA, J.;TANAKA, I.;SEO, S.; YAMAZAKI,M.; SAITO,K. LC/PDA/ESI-MS Profiling and radical scavenging activity of anthocyanins in various berries. **Journal of Biomedicine and Biotechnology**. v:5,p:241-247,2004.

ROBINSON, G.M.; ROBINSON,R. A survey of anthocyanins.I. **Biochemistry**. V.25, p.1687-1705,1931.

MÄÄTÄ-RIIHINEN, K.R.; KAMAL-ELDIN, A.; TÖRRÖNEN,R. Identification and quantification of phenolic compounds in berries of *Fragaria* and *Rubus* species (Family Rosaceae). **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v.52, p.6178-6187, 2004.

AYALA-ZAVALA , J.F.; WANG, S.Y.; WANG, C.Y.; GONZÁLEZ-AGUILA, G.A. Effect of storage temperatures on antioxidant capacity and aroma compounds in strawberry fruit. **Lebensmittel-Wissenschaft und Technologie**. v.37,p.687-695, 2004.

SEERAM,N.P.; LEE, R.; SCHEUDLER,H.S.; HEBER,D. Identification of phenolic compounds in strawberries by liquid chromatography electrospray ionization mass spectroscopy. **Food Chemistry**, v.97, p.1-11, 2006.

SILVA, F.L.; ESCIBÁNO-BAILÓN, M.T.; ALONSO, J.J.P.; RIVAS-GONZALO, J.C.; SANTOS-BUELGA, C. Anthocyanin pigments in strawberry. **Lebensmittel-Wissenschaft und Technologie**. v.40,p.374-382, 2007.

AMAKURA,Y; UMINO,Y.;TSUJI,S.;TONOGAI,Y. Influence of jam processing on the radical scavenging activity and phenolic content in berries. **Journal of Agricultural Food Chemistry**, v.48, p.6292-6297,2000.

WANG, S.Y.; LIN, H. Antioxidant activity in fruits and leaves of blackberry, raspberry, and strawberry varies with cultivar and developmental stage. **Journal of Agricultural Food Chemistry**, v.48, p.140-146,2000.

SIRIWOHARN,T.;WROLSTAD, R.E.; FINN, C.E.;PEREIRA, C.B. Influence of cultivar, maturity, and sampling on blackberry (Rubus L. Hybrids) anthocyanins, polyphenolics, and antioxidant properties. **Journal of Agricultural Food Chemistry**, v.52,p.8021-8030,2004.

HSIA, C. L.; LUH, B. S.; CHICHESTER, C. O. Anthocyanin in freestone peaches. **Journal of Food Science**, v. 30, n.1, p. 5-30, 1965.

SETER, S. D.; ROBERTSON, J. A.; MEREDITH, F. I. Phenolic compounds of the mesocarp of crehaven peaches during storage and ripening. **Journal of Food Science**, v. 54, n. 5, p. 1259-1268, 1989.

TOMÁS-BARBERÁN, F.A.; GIL, M.A.; CREMIN, P.; WATERHOUSE, A.L.; HESS-PIERCE,B.; KADER,A.A. HPLC-DAD-ESIMS Analysis of phenolic compounds in nectarines, peaches, and plums. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**.v.49, p.4748-4760, 2001.

HÄÄKINEN, S.H.; TÖRRONEN, A.R. Content of flavanols and selected phenolic acids in strawberries and Vaccinium species: influence of cultivar, cultivation site, and technique. **Food Research International**, v. 33, p. 517-524, 2000.

STOJANOVIC, J.; SILVA, J.L. Influence of osmotic concentration, continuous high frequency and dehydration on antioxidants, colour and chemical properties of rabbiteye blueberries. **Food Chemistry**. v.101, p.898-906,2007.

KOBORI, M. In vitro-screening for cancer-suppressive effect of food components, **JARQ**, v.37, n.3, p.159-165, 2003.

AMES, B.N; SHIGENAGA, M.K.; HAGEN, T.M. Oxidants, Antioxidants, and the degenerative diseases of aging. **Proceedings of the National Academy of Sciences**, v.90,n.17,p.7915-7922, 1993.

STEINMETZ, K.A.; POTTER, J.D. Vegetables, fruit, and cancer prevention: a review. **Journal of American Diet Association** , v.96, p.1027-1039, 1996.

SOUTHON, S. Increased fruit and vegetable consumption within the EU: potential health benefits. **Food Research International**.v.33,p. 211-217, 2000.

LAU,F.C.;SHUKITT-HALE,B.;JOSEPH,J.A. The beneficial effects of fruit polyphenols on brain aging. **Neurobiology of Aging**.v.26,p.128-132.2005.

VATTEM, D.A.; GHAEDIAN, R.; SHETTY,K. Enhancing health benefits of berries through phenolic antioxidant enrichment: focus on cranberries. **Asia Pac Journal Clinical Nutrition**. v.14,n.12,p.120-130, 2005.

BOYER, J.;LIU, R.H. Apple phytochemicals and their health benefits. **Nutrition Journal**. v.3, n.5, p.1-15, 2004.

WANG, H.; CAO, G.; PRIOR, R.L. Total antioxidant capacity of fruits. **Journal of Agricultural Food Chemistry**, v.44,p.701-705,1996.

KONCZAK, I.; ZHANG, W. Anthocyanins-more than nature's colours. **Journal of Biomedicine and Biotechnology**. v.5, p.239-240,2004.

LILA, M.A. Anthocyanins and human health: an in vitro investigative approach. **Journal of Biomedicine and Biotechnology**. V. 5, p.306-313,2004.

MAAS, J.L.; GALLETTA, G.J.; STONER, G.D. Ellagic acid, an anticarciogen in fruits, especially in strawberry: a review. **HortScience**, Alexandria, v.26, n.1, p.10-14. 1991.

HEO, H.J.; LEE, C.Y. Protective effects of quercetin and vitamin C against oxidative-stress induced neurodegeneration. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v.52, p.7514-7517, 2004.

BIANCHI, M.L.P.; ANTUNES, L.M.G. Radicais Livres e os principais antioxidantes da dieta. **Revista de Nutrição**. Campinas,SP. V.12, n.2, p.123-130,1999.

FERRARI, C.K.B.; TORRES, E.A.F.S. Biochemical pharmacology of functional foods and prevention of chronic diseases of aging. **Biomedicine and Pharmacotherapy**. V.57,p. 251-260, 2003.

SOARES, S.E. Ácidos fenólicos como antioxidantes. **Revista de Nutrição**. Campinas,SP. v.15,n,1,p.71-81.jan./abr. 2002.

PEREIRA,B. Radicais Livres de Oxigênio e sua Importância para a Funcionalidade Biológica. **Motriz**.v.2,n.2,p.71-79.Dez.1996

WISEMAN,A. Functional-food protected by biomonitoring of reactive oxygen species (ROS). **Trends in Food Science & Technology**. V.16, p.166-168, 2005.

AMES,B.N.; GOLD, L.S.; WILLETT,W.C. Review: The causes and Prevention of Cancer. **Proceedings of National Academy of Science**, v.92, p.5258-5265, Junho 1995.

RICE-EVANS, C.A.; MILLER, N.J.; PAGANGA, G. Structure – antioxidant activity relationships of flavonoids and phenolic acids. **Free Radical Biology & Medicine**,v.20, n.7, p.933-956,1996.

KALT,W.; HOWELL,A.; DUY,J.C.; FORNEY,C.F.; McDONALD,J.E. Horticultural factors affecting antioxidant capacity of blueberries and other small fruit.**HortTechnology**.v.11, n.4, p. 523-528 , 2001.

WU , X. ; GU, L.; PRIOR, R.; McKAY, S. Characterization of anthocyanins and proanthocyanidins in some cultivars of ribes, aronia, and sambucus and their antioxidant capacity. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**. v. 52,p.7846-7856, 2004.

PRIOR, R.L.; CAO,G. In vivo total antioxidant capacity: comparison of different analytical methods. **Free Radical Biology & Medicine**. V. 27, n.11/12, p.1173-1181, 1999.

SÁNCHEZ-MORENO, C. Review: Methods used to evaluate the free radical scavenging activity in foods and biological systems. **Food Science Technology International**. V.8, n.3, p.121-137, 2002.

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

PRYOR,W.A. **Introdução ao Estudo dos Radicais Livres**.Ed.Edgard Blucher Ltda.São Paulo. 1970. 132p.

BRAND-WILLIAMS,W. ; CUVELLIER, M.E.; BERSET, C. Use of a free radical method to evaluate antioxidant activity. **Lebensmittel-Wissenschaft und Technologie**. v.28,p.25-30, 1995.

BONDET, V.; BRAND-WILLIAMS, W.; BERSET,C. Kinetics and mechanisms of antioxidant activity using DPPH· Free radical method. **Lebensmittel-Wissenschaft und Technologie**, v.30,p. 609-615, 1997.

RE, R.; PELLEGRINI, N.; PROTEGGENTE, A.; PANNALA, A.; YANG, M.; RICE-EVANS, C. Antioxidant activity applying an improved ABTS radical cation decolorization assay. **Free Radical Biology & Medicine**. V.26, n.9/10, p.1231-1237,1999.

HENRIQUEZ,C.; LISSI,E. Evaluation of the extinction coefficient of the ABTS derived radical cation. **Boletín de la Sociedad Chilena de Química**. V.47,n.4,2002.

ESTI, M. et al. Quality evaluation of peaches and nectarines by eletrochemical and multivariate analyses: relationships between analytical measurements and sensory attributes. **Food Chemistry**, Kidlington, v.60, n.4, p. 659-66, 1997.

MAHAN, L.K.; ESCOTT-STUMP, S. **Krause: alimentos, nutrição e dietoterapia**. 9 ed. São Paulo: Roca, 1998. 1179p.

MEREDITH,F.I.; ROBERTSON, J. A. HOVART, R.J. Changes in physical and chemical parameters associated with quality and postharvest ripening of harvester peaches. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**. v.37,p.1210-1214, 1989.

WANG, T.; GONZALES, A.R.,GBUR, E.E., ASELAG, J.M. Organic acid changes during ripening of processed peaches. **Journal of Food Science**. V.58, n.3, p.631-632, 1993.

GIL,M.I.;TOMÁS-BARBERÁN, F.A.; HESS-PIERCE, B.;KADER, A.A. Antioxidant capacities, phenolic compounds, carotenoids, and vitamin c contents of nectarine, peach, and plum cultivars from California. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**. v. 50, p.4976-4982,2002.

SANTOS, A.M.; RASEIRA, M.C.B.; MADAIL, J.C.M. **A cultura da amora-preta**.Coleção Plantar,33. Brasília: Embrapa SPI. 1997.61p.

RASEIRA ,M.C.B. Cultivares. In: **A cultura do Mirtilo**.Versão on-line. Disponível em:<[http:// www.embrapa.cpact.br/publicacoes](http://www.embrapa.cpact.br/publicacoes) > Acesso em: outubro de 2006.

HERTER, F.G.; WREGE, M.S. Fatores Climáticos. In: **A cultura do Mirtilo**.Versão on-line. Disponível em :<[http:// www.embrapa.cpact.br/publicacoes](http://www.embrapa.cpact.br/publicacoes) > Acesso em: outubro de 2006.

MADAIL, J.C.M. ; SANTOS, A.M. Aspectos Econômicos do Mirtilo. In: **A cultura do Mirtilo**.Versão on-line. Disponível em :<[http:// www.embrapa.cpact.br/publicacoes](http://www.embrapa.cpact.br/publicacoes) > Acesso em: outubro de 2006.

REICHERT,L.J.; MADAIL, J.C.M. Aspectos sócio-econômicos.In: SANTOS,A.M.; MEDEIROS, A.R.M. Edição **Morango.Produção**.Informação Tecnológica. Brasília.p.12-15.2003.

IBRAF, 2006. Disponível em: <http://www.ibraf.br>. Acesso em: dezembro de 2006.

USDA, 2006. Disponível em <http://www.nal.usda.gov/fnic/foodcomp>

MADAIL,J.C.M.; REICHERT, L.J. Produção Mundial e Nacional. In: Pêssego. Produção. **Frutas do Brasil**. Brasília: Embrapa SPI. 2003.p.10-17.

NAKASU, B.H. Introdução. In: RASEIRA, M.C.B.; CENTELLAS-QUEZADA, A. Pêssego.Produção. **Frutas do Brasil**. Brasília SPI. 2003. p.9.

RASEIRA, M.C.B.; CENTELLAS-QUEZADA, A. Classificação botânica, origem e evolução. In: Pêssego.Produção.**Frutas do Brasil**. Brasília: Embrapa SPI. 2003.p.41-59.

RASEIRA, M.C.B.; NAKASU, B.H. Cultivares. In: RASEIRA, M.C.B.; CENTELLAS-QUEZADA, A. Pêssego.Produção.**Frutas do Brasil**. Brasília: Embrapa SPI. 2003.p.41-59.

AOAC – Official Methods of Analysis of AOAC International. Dr. William Horwitz., 17ed.Editora Maryland: AOAC Interational,2000.

LEES, D.H.; FRANCIS, F.J. Standardization of pigment analyses in cranberries. **Hortscience**. V.7,n.1, p.83-84, 1972.

SINGLETON, V.L.; ROSSI, J.A. Colorimetry of total phenolics with phosphomolybdic-phosphotungstic acid reagents. **American Journal of Enology and Viticulture**. V. 16, p.144-158, 1965.

OZGEN, M.; REESE, R.N.; TULLIO Jr., A.Z.; SCHEERENS, J.C.; MILLER, A.R. Modified 2,2-azino-bis-3-ethylbenzothiazoline-6-sulfonic acid (ABTS) method to measure antioxidant capacity of selected small fruits and comparison to ferric reducing antioxidant power (FRAP) and 2,2'-diphenyl-1-picrylhydrazyl (DPPH) methods. **Journal of Agricultural Food Chemistry**. v.54, p.1151-1157, 2006.

SKOOG, D. A., WEST, D. M., HOLLER, F. J., CROUCH, S. R. **Fundamentos de Química Analítica**. 8ª edição. São Paulo: Pioneira Thomson Learning, 2006. 999p.

KALT, W.; FORNEY, C.F.; MARTIN, A.; PRIOR, R.L. Antioxidant capacity, vitamin C, phenolics, and anthocyanins after fresh storage of small fruits. **Journal of agricultural Food Chemistry**, v.47, p.4638-4644, 1999.

ZHENG, Y.; WANG, S.Y.; WANG, C.Y.; ZHENG, W. Changes in strawberry phenolics, anthocyanins, and antioxidant capacity in response to high oxygen treatments. **Lebensmittel-Wissenschaft und Technologie**. V. 40, p. 49-57, 2007.

REYES-CARMONA, J.; YOUSEF, G.G.; MARTÍNEZ-PENICHE, R.A.; LILA, M.A. Antioxidant capacity of fruit extracts of blackberry (*Rubus* sp.) produced in different climatic regions. **Journal of Food Science**. V.70, p.497-503, 2005.

PLESSI, M.; BERTELLI, D.; ALBASINI, A. Distribution of metals and phenolic compounds as a criterion to evaluate variety of berries and related jam. **Food Chemistry**. v.100, p.419-427, 2007.

FARIA, A.; OLIVEIRA, J.; NEVES, P.; GAMEIRO, P.; SANTOS-BUELGA, C.; FREITAS, V.; MATEUS, N. Antioxidant properties of prepared blueberry (*Vaccinium myrtillus*) extracts. **Journal of Agricultural Food Chemistry** V.53, p.6896-6902, 2005.

EHLENFELDT, M.; PRIOR, R.L. Oxygen radical absorbance capacity (ORAC) and phenolic and anthocyanin concentrations in fruit and leaf tissues of highbush blueberry. **Journal of Agricultural Food Chemistry** V.49, p. 2222-2227, 2001.

PRIOR, R.L.; CAO, G.; MARTIN, A.; SOFIC, E.; McEWEN, J.; O'BRIEN, C.; LISCHNER, N.; EHLENFELDT, M.; KALT, W.; KREWER, G.; MAINLAND, C.M. Antioxidant capacity as influenced by total phenolic and anthocyanin content, maturity, and variety of *Vaccinium* species. **Journal of Agricultural Food Chemistry**. v.46, p.2686-2693, 1998.

TORALLES, R. P.; VENDRUSCOLO, J. L.; VENDRUSCOLO, C.T.; DEL PINO, F. B.; ANTUNES, P. L. Properties of polyphenoloxidase and peroxidase from Granada clingstone peaches. **Brazilian Journal**, v. 8, n. 3, Jul-Set., 2005.

CHEEL, J.; THEODULOZ, C.; RODRIGUEZ, J.A.; CALIGARI, P.D.S.; SCHMEDA-HIRSCHMANN, G. Free-radical scavenging activity and phenolic content in achenes from, *Fragaria chiloensis* ssp. , *F. vesca*, and *F. x ananassa* cv. Chandler. **Food Chemistry**. v. 102, p.36-44, 2007.

JIAO, H.; WANG, S.Y. Correlation of antioxidant capacities to oxygen radical scavenging enzyme activities in blackberry. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**. v. 48,p.5672-5676, 2000.

ARNOUS, A.; MAKRIS, D.P. ; KEFALAS, P. Effect of principal polyphenolic components in relation to antioxidant characteristics of aged red wines. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**. v. 49,p.5736-5742, 2001.

LEE, K.W.; KIM, Y.J.; LEE, H.J.; LEE, C. Y. Cocoa has more phenolic phytochemicals and a higher antioxidant capacity than teas and red wine. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**. v.51,p.7292-7295, 2003.

BRAVO,L.; GOYA, L.; LECUMBERRI, E. LC/MS characterization of phenolic constituents of mate (*Ilex paraguariensis*, St. Hil.) and its antioxidant activity compared to commonly consumed beverages. **Food Research International**.2006.

THAIPONG, K.; BONNPRAKOB, U.; CROSBY, K.; CISNEROS-ZEVALLOS, L.; BYRNE, D.H. Comparison of ABTS, DPPH, FRAP, and ORAC assays for estimating antioxidant activity from guava fruit extracts. **Journal of Food Composition and Analysis**. V.19, p.669-675,2006.

KUSKOSKI, E.M.; ASUERO, A.G.; MORALES, M.T.; FETT, R. Frutos Tropicais silvestres e polpas congeladas: atividade antioxidante, polifenóis e antocianinas. **Ciência Rural**. V.36, n.4, p.1283-1287,2006.

FUKUMOTO, L.R.; MAZZA, G. Assessing antioxidant and prooxidant activities of phenolic compounds. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**. v.48,p.3597-3604,2000.

MUÑOS-ESPADA, A.C.; WOOD, K.V.; BORDELON, B.; WATKINS, B.A. Anthocyanin quantification and radical scavenging capacity of concord, norton, and marechal foch grapes and wines. **Journal of Agricultural and Food Chemistry** V.52, p.6779-6786,2004.

RUBERTO, G.; RENDA, A.; DAQUINO, C.; AMICO, V.; SPATAFORA, C.; TRINGALI, C.; TOMMASI, N. Polyphenol constituents and antioxidant activity of grape pomace extracts from five Sicilian red grapes cultivars. **Food Chemistry**. v.100, p.203-210, 2007.

LEONG, L.P.;SHUI, G. An investigation of antioxidant capacity of fruits in Singapoure markets. **Food Chemistry**. V.76, p.69-75, 2002.

MILIAUSKAS, G.; VENSKUTONIS, P.R.; VAN BECK, T.A. Screening of radical scavenging activity of some medicinal and aromatic plant extracts. **Food Chemistry**. v.85,p. 231-237, 2004.

ASAMI, D.K.; HONG, Y-J; BARRETT, D.M.; MITCHELL, A.E. Processing-induced changes in total phenolics and procyanidins in clingstone peaches. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, v.83, p.56-63, 2003.

GIL, ,M.I.; TOMÁS-BARBERÁN, F.A.; HESS-PIERCE, B. HOLCROFT, D.M.; KADER, A.A. Antioxidant Activity of pomegranate juice and its relationship with

phenolic composition and processing. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**. v.48,p.4581-4589, 2000.

