

UNIVERSIDADE FEDERAL DO PAMPA

MARIANE NUNES GOMES

**ANALISES FÍSICO-QUÍMICAS E POTENCIAL ANTIOXIDANTE DE AMORAS-
PRETAS DE DIFERENTES REGIÕES DA CIDADE DE DOM PEDRITO-RS**

BAGÉ

2015

MARIANE NUNES GOMES

**ANALISES FÍSICO-QUÍMICAS E POTENCIAL ANTIOXIDANTE DE AMORAS-
PRETAS DE DIFERENTES REGIÕES DA CIDADE DE DOM PEDRITO-RS**

Trabalho de Conclusão de Curso apresentado ao Curso de Especialização em Processos Agroindustriais da Universidade Federal do Pampa, como requisito parcial à obtenção do título de Especialista em Processos Agroindustriais.

Orientador: Miriane Azevedo.

BAGÉ

2015

MARIANE NUNES GOMES

**ANALISES FÍSICO-QUÍMICAS E POTENCIAL ANTIOXIDANTE DE AMORAS-
PRETAS DE DIFERENTES REGIÕES DA CIDADE DE DOM PEDRITO-RS**

Trabalho de Conclusão de Curso apresentado ao Curso de Especialização em Processos Agroindustriais da Universidade Federal do Pampa, como requisito parcial à obtenção do título de Especialista em Processos Agroindustriais.

Orientador: Miriane Azevedo.

Banca examinadora:

Prof. Dra. Miriane Azevedo
Orientador
UNIPAMPA

Prof. Dra. Ana Paula Manera
UNIPAMPA

Prof. Dra. Fernanda Germano Alves Gautério
UNIPAMPA

Resumo

GOMES, Mariane Nunes. **ANÁLISES FÍSICO-QUÍMICAS E POTENCIAL ANTIOXIDANTE DE AMORAS-PRETAS *Morus Nigra* L DE DIFERENTES REGIÕES DA CIDADE DE DOM PEDRITO-RS.** 2014. 42f. Trabalho de Conclusão de Curso - Especialização em Processos Agroindustriais. Universidade Federal do Pampa, Bagé.

Comprovada a importância e o aumento da procura da amora-preta, devido ao seu sabor diferenciado e às propriedades benéficas e tendo em vista a grande disponibilidade deste fruto nas ruas da cidade de Dom Pedrito-RS, o presente trabalho teve como objetivo identificar seis árvores de amoreiras pretas, situadas em diferentes locais da cidade de Dom Pedrito/RS e avaliar as características físico-químicas e potencial antioxidante de seus frutos. Para tanto foi quantificado o potencial hidrogeniônico, acidez titulável, sólidos solúveis, teores de compostos fenólicos totais e antocianinas totais, além de avaliar o potencial antioxidante destes frutos. Para as análises foram utilizados métodos de Less e Francis, Folin-Ciocalteu e Singleton e Rossi. As amoras foram colhidas no mês de outubro de 2013 e foram avaliadas em triplicata. As observações feitas nas folhas das árvores mostraram que as amoras são da família Moráceas e a espécie é *Morus Nigra* L, que na medicina popular é empregada nos casos de ondas de calor e até mesmo indicada como terapia de reposição hormonal. Quanto aos resultados das análises, pode-se observar que, o potencial hidrogeniônico mostrou diferença significativa ($p \leq 0,05$) entre as amostras, os resultados ficaram entre a amostra VI (3,22) com o menor valor e a amostra III (4,25) com o maior valor, as análises de acidez titulável também apresentaram diferença significativa ($p > 0,05$) entre as amostras, ficando o menor valor com a amostra III (0,65 %) e o maior valor com a amostra VI (2,97 %) de ácido málico e os sólidos solúveis apresentaram-se em maior valor nas amostras II (16,5) e III (18,2). A percentagem de inibição da atividade antioxidante encontrou-se na média de 32,49 a 79,82 %, para antocianinas totais houve diferença significativa ($p \leq 0,05$) entre todas as amostras, ficando o menor valor com a amostra III (47,97 mg de cianidina-3-glicosídeo.100g⁻¹) e o maior valor com amostra VI (99,99 mg de cianidina-3-glicosídeo.100g⁻¹). Fenóis totais apresentou diferença significativa

($p \leq 0,05$) entre as amostras I (220,92 mg de ác. Gálico.g⁻¹), II (196,87 mg de ác. Gálico.g⁻¹) e V (235,14 mg de ác. Gálico.g⁻¹). As variedades de amora-preta avaliadas apresentaram nível de açúcar e acidez adequados para a industrialização, além de ser rica em antioxidantes.

Palavras-chave: *Amoreira*, *Morus nigra L*, pequenos frutos, compostos fenólicos, antocianinas.

Abstract

GOMES, Mariane Nunes. **Physico - Chemical analysis and antioxidant potential of blackberries from different regions of the city of Dom Pedrito – RS.** 2014. 42 p. Final Paper - Especialização em Processos Agroindustriais. Universidade Federal do Pampa - Bagé.

Proven the importance and increasing demand of blackberry, due to its distinctive flavor and beneficial properties, in view of the wide availability of this fruit in the streets of Dom Pedrito – RS, this study aimed to indentify six black mulberry trees, at different locations in the city of Dom Pedrito - RS and evaluate the physicochemical characteristics and antioxidant potential of its fruit. To that end, was quantified the hydrogen potential, titratable acidity, soluble solids, content of total pheroics and anthocyanins, besides evaluating the antioxidant potential of these fruits. The blackberries were harvested in october 2013 and were evaluated in triplicate. The observations made in the leaves of the trees showed that the blackberries belong to Moaraceas family, and the species is *Morus nigra* L. wich is used in folk medicine in cases of heat waves and even indicated as hormone replacement therapy. Acording to literature, possesses antioxidant, hypoglycemic, anti-inflammatory and antimicrobial activity. As to the results of the analysis, it can be seen that the potential hydrogenionic showed significant difference ($p \leq 0.05$) between samples, the results were between sample VI (3.22) with the lower value and the sample III (4.25) with the highest value, the acidity analysis also showed significant differences ($p > 0.05$) between samples, with the lowest value with the sample III (0.65%) and the highest value with the sample VI (2.97%) of malic acid and soluble solids presented in greater value in the samples II (16.5) and III (18.2). The percentage of inhibition of antioxidant activity found on the average from 32.49 to 79.82%, for total anthocyanins was no significant difference ($p \leq 0.05$) between all samples, with the lowest value with the sample III (47 , 97 mg of cyanidin-3-glicoside.100g⁻¹) and the highest value with sample VI (99.99 mg of cyanidin-3-glicoside.100g⁻¹). Total phenols showed a significant difference ($p \leq 0.05$) between samples I (220.92 mg gallic acid.g⁻¹), II (196.87 mg gallic acid.g⁻¹) and V (235 14 mg of gallic acid.g⁻¹). The

varieties of blackberry evaluated had levels of sugar and acidity suitable for industrialization, besides being rich in antioxidants.

Keywords: Mulberry, *Morus nigra* L, small fruits, phenolic compounds, anthocyanins.

LISTA DE FIGURAS

FIGURA 1: Amoreira preta <i>Morus Nigra</i> L.	14
FIGURA 2: Mapa das regiões de coleta dos frutos de amoreira-preta (Dom Pedrito-RS), 2013.....	22
FIGURA 3: Análise de atividade antioxidante DPPH: extratos de amostras de amora-preta em tubo falcon, macerando com metanol.	24
FIGURA 4: Determinação de Fenóis Totais: as amostras de amora-preta <i>Morus Nigra</i> L em banho a 25°C durante 3 horas.	25
FIGURA 5: Determinação de Fenóis totais: filtrando a solução com algodão para o balão volumétrico.	26
FIGURA 6: Determinação de Fenóis Totais: balão completo com metanol até o volume de 50 ml.	26
FIGURA 7: Determinação de Antocianinas Totais: alicotas das amostras de amora-preta <i>Morus Nigra</i> L.....	27
FIGURA 8: Determinação de Antocianinas Totais: Homogeneização das amostras de amora-preta <i>Morus Nigra</i> L com agitador magnético.....	28
FIGURA 9: Determinação de Antocianinas Totais: Filtragem da amostra de amora-preta <i>Morus Nigra</i> L. com papel filtro.	28

LISTA DE TABELAS

TABELA 1: Valores dos parâmetros estudados: Ph, Acidez Titulável e Sólidos Solúveis entre as amostras de amora-preta <i>Morus Nigra L.</i>	29
TABELA 2: Atividade Antioxidante DPPH nas amostras de amora-preta <i>Morus Nigra L.</i>	32
TABELA 3: Fenóis Totais nas amostras de amora-preta <i>Morus Nigra L.</i>	33
TABELA 4: Antocianinas Totais em amostras de amora-preta <i>Morus Nigra L.</i>	34

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO.....	11
2 REVISÃO DE LITERATURA.....	12
2.1 Doenças crônicas não transmissíveis (DCNT).....	12
2.2 Consumo de frutas.....	13
2.3 Amoreira-preta.....	14
2.3.1 Aspectos nutricionais da amora-preta.....	16
2.3.2 Potencial Antioxidante da amora-preta.....	17
2.3.2.1 Compostos Fenólicos.....	18
2.3.2.1.1 Antocianinas.....	19
2.4. Caracterização Botânica.....	20
2.4.1 Moráceas.....	20
2.4.2 <i>Morus nigra</i> L.....	20
3 METODOLOGIA.....	21
3.1 MATERIAL.....	21
3.2 MÉTODOS.....	23
3.2.1 Identificação botânica.....	23
3.2.2 Determinações físico-químicas gerais do fruto <i>in natura</i> de amora-preta.....	23
3.2.2.1 Potencial Hidrogeniônico (pH).....	23
3.2.2.2 Acidez titulável.....	23
3.2.2.3 Sólidos solúveis.....	23
3.2.2.4 Determinação do Potencial Antioxidante.....	24
3.2.2.5 Quantificação de Fenóis Totais.....	24
3.2.2.6 Quantificação de Antocianinas Totais.....	27
3.3 Análise Estatística.....	29
4 RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	29
5 CONCLUSÃO.....	36
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	37

1 INTRODUÇÃO

De acordo com a Organização Mundial de Saúde (OMS,1997), as doenças crônicas não transmissíveis são responsáveis por cerca de 60% do total de mortes relatadas no mundo e 46% da carga total de doenças que atinge a população mundial. Estudos recentes sobre dieta, nutrição e prevenção de doenças crônicas apresentam fortes evidências acerca do papel da alimentação na proteção e controle de morbidades como diabetes, doenças cardiovasculares, alguns tipos de câncer, entre outras. Dieta saudável e seu consumo em quantidade adequada pode reduzir o risco de doenças cardiovasculares e alguns tipos de câncer (LOCK K,2005).

O consumo insuficiente de frutas, legumes e verduras, encontra-se entre os dez principais fatores de risco para a carga global de doenças em todo o mundo (WHO, 2003). A Pesquisa de Orçamentos Familiares (POF) realizada entre 2008 e 2009, identificou consumo insuficiente de frutas e hortaliças (< 400g diários) em mais de 90% da população brasileira.

Dentre as várias opções de espécies frutíferas com boas perspectivas de cultivo e comercialização, surge a amora-preta (*Rubus* spp) como uma das mais promissoras. A amora-preta é uma das espécies que têm apresentado sensível crescimento de área cultivada nos últimos anos no Rio Grande do Sul (principal produtor brasileiro) e tem elevado potencial para os demais estados de características climáticas semelhantes (ANTUNES et al., 2000).

A amora-preta já é considerada uma fruta funcional, ou seja, além das características nutricionais básicas, quando consumida como parte usual da dieta, produz efeito fisiológico/metabólico benéfico à saúde humana, sendo segura para consumo sem supervisão médica (VIZZOTO, 2008).

Pertence ao gênero *Rubus* que, contém, aproximadamente, 740 espécies, divididas, segundo alguns autores, em 12 subgêneros ou, segundo outros, em 15 subgêneros (DAUBENY, 1996).

Existem inúmeras cultivares de amoreira-preta, mas as selecionadas no Brasil são 'Tupy', 'Guarani', 'Negrita', 'Caingangue', 'Ébano' e 'Xavante' (ANTUNES, 2002). As cultivares 'Tupy' e 'Guarani' são recomendadas para o consumo *in natura* pelo

fato de apresentarem baixa acidez, sendo que a 'Guarani' também é recomendada para industrialização devido ao alto teor de sólidos solúveis e ph adequado. (SANTOS & RASEIRA, 1988).

Sendo a amora-preta, um fruto rico em nutrientes e compostos fenólicos importantes para saúde humana, o presente trabalho teve o objetivo de identificar a espécie de seis amoreiras-pretas (*Rubus ssp*) de diferentes locais da cidade de Dom Pedrito-RS, e avaliar algumas características físico-químicas e potencial antioxidante do seu fruto, comparando-os entre si, demonstrando a importância do consumo deste fruto que encontra-se em grande abundância nesta cidade.

2 REVISÃO DE LITERATURA

2.1 Doenças crônicas não transmissíveis (DCNT)

A composição inadequada das dietas atuais constitui um dos principais fatores de risco para as doenças crônicas não transmissíveis. O consumo insuficiente de frutas, legumes e verduras está entre os principais fatores de risco para a carga global de doença em todo o mundo, uma vez que são considerados importantes na composição de uma alimentação saudável, agindo de maneira inquestionável na manutenção da saúde e no balanço energético, introduzindo nutrientes com efeitos significativos, especificamente prevenindo diversos tipos de câncer e Doenças Crônicas não Transmissíveis (DCNT) como obesidade, diabetes tipo 2 e doenças cardiovasculares (SICHERI R,2006).

Com a grande praticidade dos produtos industrializados que são produzidos com muita variedade hoje em dia, existe um consumo insuficiente de frutas e verduras, que se encontra entre os principais fatores de risco para a população mundial, por serem indispensáveis na composição de uma dieta adequada. (STEINMETZ et al.,1996).

A nutrição é uma das ciências mais importantes para garantir o bem estar das pessoas, conceito esse defendido também pela OMS. Como parte desse bem estar, inclui-se a saúde do indivíduo e esta, por sua vez, está estreitamente relacionada

com os seus hábitos alimentares. O conhecimento do consumo de alimentos e dos hábitos alimentares das populações é de fundamental importância para que se evidenciem as necessidades e deficiências relativas à sua alimentação (VELOSO e SANTANA, 2002).

2.2 Consumo de frutas

Franco (2013), afirma que as frutas são componentes essenciais para se obter uma dieta saudável, apresentam baixa densidade energética, alto teor de fibras, compostos antioxidantes, além de serem fontes de micronutrientes e outros componentes funcionais.

Aproximadamente 2,7 milhões de óbitos podem ser atribuídos a um baixo consumo de frutas e vegetais. Estudos sobre dieta, nutrição e prevenção de doenças crônicas apresentam fortes evidências acerca do papel da alimentação na proteção e controle de morbidades, como diabetes, doenças cardiovasculares, alguns tipos de câncer entre outras (WHO, 2003).

Segundo Kuskoski (2005), além dos nutrientes essenciais e dos micronutrientes, as frutas contribuem com diversos componentes oriundos do metabolismo secundário. O consumo de frutas e hortaliças é associado com baixo risco de incidência e mortalidade por câncer e doenças cardíacas, devido à presença destes compostos, especialmente flavonoides e antocianinas, os quais revelam grande capacidade de reagir com radicais livres e, portanto, contribuem na prevenção de doenças cardiovasculares, circulatórias, neurológicas e cancerígenas.

No Brasil, a exemplo do que acontece em outros países do mundo, o padrão alimentar atual inclui ainda um consumo insuficiente de frutas, legumes e verduras, padrão este associado não somente à obesidade como a outras patologias.

Um estudo feito por Chim (2008) em Pelotas-RS, mostrou que apenas uma minoria (20,9 %) dos indivíduos adultos consomem frutas, verduras e legumes regularmente; ainda Jaime e Monteiro (2007), em seu estudo intitulado “Pesquisa

Mundial da Saúde do Brasil” relatou que, o consumo de cinco ou mais porções de frutas, verduras e legumes ao dia, foi confirmado por 20,4 % dos entrevistados, o que representa uma ingestão adequada.

Claro (2007), mostrou em seus estudos, que existem diferentes razões que levam ao consumo insuficiente de frutas, como a insuficiência do processo produtivo, preço, dificuldade de aquisição, gosto e falta de conhecimento por parte dos indivíduos sobre os benefícios das frutas. Órgãos nacionais e internacionais e Universidades trabalham para identificar os motivos desta dificuldade e superá-los.

2.3 Amoreira-preta

A amoreira é uma espécie arbustiva de porte ereto ou rasteiro, que produz frutos agregados, com cerca de 4 a 7 gramas e coloração que vai do azul ao roxo. Apresenta espinhos em suas principais cultivares comerciais, o que exige do operador da colheita muito cuidado com sua integridade física e com a qualidade do fruto (FACCHINELLO et al., 1994).



FIGURA 1: Amoreira preta *Morus Nigra* L.

Fonte : Tua saúde, 2014.

As amoras-pretas são frutos compostos, vermelho-escuros e de sabor agradável (MARCHIORI,1997).

As infrutescências são grandes, ovaladas, negras ou vermelhas brilhantes, quase sésseis. Seus frutos são comestíveis de sabor agridoce, muito sumosas e refrescantes (MORGAN, 1982).

A fruta possui sabor equilibrado em acidez e doçura, aroma ativo e coloração intensa, características que estimulam sensorialmente o seu consumo, tanto *in natura* como associada a outros produtos (GRANADA et al., 2001).

Contém compostos fenólicos que apresentaram amplo espectro de atividade bioquímica, tais como propriedades antioxidantes, antimutagênicas e anticarcinogênicas bem como a capacidade de modificar a expressão gênica (NAKAMURA et al., 2003).

A designação 'pequenos frutos' (ou 'small fruits') é utilizada na literatura internacional para referenciar diversas culturas, como a do morango, amora-preta, framboesa, groselha, mirtilo, entre outras. O cultivo de pequenos frutos caracteriza-se pela elevada exigência de mão-de-obra e pela possibilidade de obtenção de alto retorno econômico.

Embora existam espécies nativas no Brasil, a amoreira-preta só começou a ser pesquisada em 1972 pela Embrapa Clima Temperada, sendo a primeira coleção implantada em 1974 no município de Canguçu-RS (HEIDEN et al., 2004).

Segundo Antunes (2000), no Rio Grande do Sul, as maiores produções encontram-se nos municípios de Pelotas, Feliz, Farroupilha e Vacaria, sendo este último o maior produtor gaúcho. A cultivar 'Tupy' responde por 90% da área cultivada.

A safra de amora-preta é concentrada em alguns meses do ano, especialmente de outubro a dezembro, e por ser uma fruta de baixa conservação pós-colheita, pode dificultar a produção. Pesquisadores investigam métodos para aumentar o período de colheita e a utilização de técnicas culturais que possam estender o período de produção, para auxiliar o produtor. Com a escassez da fruta em outros meses, pesquisadores estudam o destino da produção para o processamento industrial, como o congelamento dos frutos (ANTUNES e RASSEIRA, 2004).

O consumo regular desta fruta, aliado a um estilo de vida saudável, incluindo dieta equilibrada e exercícios físicos, pode prevenir alguns tipos de doenças crônicas não-transmissíveis. Além disso, alguns compostos encontrados nesta fruta, como as antocianinas, podem ser utilizados na indústria alimentícia como corante natural, seguindo a tendência mundial de redução no uso de corantes artificiais. A purificação e concentração de alguns fitoquímicos da amora-preta, como o ácido elágico, podem ser apresentados na forma de encapsulados, e comercializados como nutracêuticos (Embrapa Clima Temperado, 2008).

2.3.1 Aspectos nutricionais da amora-preta

A amora preta é altamente nutritiva, contém 85% de água, 10% de carboidratos, com elevado conteúdo de minerais, como o cálcio, e vitaminas A,B e C (POLING, 1996). Ainda contém ácidos graxos essenciais, como o linoleico e o linolênico. Esses compostos devem ser obtidos através da dieta e são importantes para regular várias funções do corpo, incluindo pressão arterial, viscosidade sanguínea, imunidade e resposta inflamatória (PAWLOSKY et al, 1996).

Destacam-se neste fruto os pigmentos naturais, principalmente a antocianina, que confere uma coloração atraente no processamento de seus frutos, na confecção de produtos lácteos, geleias e doces em calda (ANTUNES, 2002). Estudos relatam que as antocianinas teriam efeito protetor à saúde, o que tem sido relacionado ao seu poder antioxidante, pois os compostos fenólicos, incluindo as antocianinas, possuem a capacidade de doar hidrogênios ou elétrons aos radicais livres (RICE-EVANS et al., 1996).

As amoras apresentam uma forma característica gerada a partir do agrupamento de vários e minúsculos frutos que se unem formando uma polpa rica em água e açúcar. Esta fruta é geralmente consumida *in natura*, mas também utilizada em tortas, sorvetes compotas, geleias doces cristalizados e outros (MACHADO, 2007).

2.3.2 Potencial Antioxidante da amora-preta

De acordo com a US National Academy of Sciences (2000), antioxidante alimentar, é toda substância na dieta capaz de reduzir significativamente os efeitos adversos produzidos por espécies reativas, como aquelas de oxigênio e nitrogênio, e que possuem função normal no organismo.

A atividade antioxidante está relacionada, também, à presença de grupos hidroxila em sua estrutura química e à alta reatividade dos mesmos, fatores considerados críticos para a neutralização de radicais livres (ELISIA et al., 2007).

A promoção da saúde como qualidade de vida e a busca por uma alimentação saudável têm sido metas a serem alcançadas neste século. Trabalhos envolvendo a atividade antioxidante de alimentos e substâncias isoladas de fontes naturais demonstram que o consumo de frutas, vegetais, vinhos e chás, estão relacionados à redução de risco de câncer e de doenças cardiovasculares (AJILA et al., 2007).

O efeito antioxidante demonstrado *in vivo* é de grande importância para incentivar o consumo destas frutas. Em ratos, antocianinas extraídas de amora-preta foram capazes de reduzir o número e o tamanho de tumores (câncer de pele) malignos e não malignos, os quais foram induzidos quimicamente na pele destes animais. Estes compostos inibiram a migração e invasão do câncer (DING et al., 2006).

Entre os antioxidantes presentes nas frutas e vegetais, em especial nas amoras-pretas, os mais ativos e frequentemente encontrados são os compostos fenólicos, tais como os ácidos fenólicos e os flavonoides (SOARES, 2002).

2.3.2.1 Compostos Fenólicos

Os antioxidantes podem ser divididos em duas classes: os que apresentam atividade enzimática e os que não apresentam atividade enzimática. Na primeira, estão incluídos os compostos capazes de bloquear a iniciação de oxidação, ou seja, as enzimas que removem as espécies reativas ao oxigênio. Na segunda classe, estão incluídas moléculas que interagem com as espécies radicalares, as quais são consumidas durante a reação; incluindo os antioxidantes naturais e sintéticos, como os compostos fenólicos (MOREIRA, 2004).

Antunes (2000), afirma que os compostos fenólicos são definidos como substâncias que possuem um anel aromático com um ou mais substituintes hidroxílicos. O mesmo autor ainda diz que as propriedades benéficas destes compostos podem ser atribuídas à capacidade de sequestrar os radicais livres, devido às propriedades de óxido-redução, desempenhando importante papel na eliminação e desativação desses radicais.

A presença de compostos fenólicos específicos em cada fruta pode estar relacionada a fatores como o tipo de fruta, variedade, localização geográfica da planta, condições ambientais e climáticas durante o crescimento da mesma (fertilização, temperatura, luz e água), assim como com a incidência de doenças (KING e YOUNG, 1999). Os níveis de compostos fenólicos podem ser influenciados por fatores, como condições de amadurecimento e armazenamento pós colheita dos frutos e por processos tecnológicos utilizados na elaboração e armazenamento dos produtos derivados (ZADERNOWSKI, 2005).

Os compostos fenólicos são instáveis podendo sofrer degradação durante as diversas etapas do processamento, armazenamento e estocagem de alimentos (ELISIA et al., 2007). O interesse em experiências com compostos fenólicos está cada vez maior, pois além de benéficos para a saúde, valoriza o alimento e aumenta a sua procura.

A importância dos polifenóis na nutrição humana, geralmente está relacionada à promoção da saúde e possível prevenção de algumas doenças (GIBNEY, 2006).

Dentre os seus efeitos potencialmente benéficos à saúde destacam-se atividade antiinflamatória, antiviral, antimicrobiana e antioxidante (NARAYANA et al, 2001).

2.3.2.1.1 Antocianinas

Antocianinas (do grego: *anthos* - flor e *kyanos* - azul), são compostos fenólicos flavonoides, amplamente distribuídos na natureza, responsáveis pela coloração de frutas, flores e vegetais (DUARTE et. al., 2006).

Segundo Falcão et. al, (2003), as antocianinas são conhecidas como fontes alternativas aos corantes sintéticos de coloração vermelha. Além dos atributos de cor, os interesses nesses compostos tem intensificado em função de seus efeitos benéficos à saúde. Seu espectro de cor vai do vermelho ao azul, apresentando-se também como uma mistura de ambas as cores, resultando em tons de púrpura. Muitas frutas, hortaliças, folhas e flores devem sua atrativa coloração a estes pigmentos.

As antocianinas, como os demais corantes naturais, apresentam problemas de estabilidade com relação a luz, pH e oxigênio. A degradação pode ocorrer desde a extração, purificação dos pigmentos até o processamento e estocagem, sendo que os principais fatores que afetam a estabilidade são a estrutura do pigmento, pH, temperatura e tipo de solvente (LIMA et al.2002).

Além de ser fonte de compostos funcionais, amoreira-preta *Morus Nigra L* é uma fruta de alta qualidade nutricional, rica em vitamina C e elevado conteúdo de minerais e vitaminas do complexo B (ANTUNES 2002).

Estudos demonstram que as antocianinas são rapidamente absorvidas pelo intestino delgado, e após, são metabolizadas e excretadas na bile e urina na forma intacta, metiladas e/ou glicuronizadas (TALAVERA et al., 2005). Talavera et al. (2005), ainda afirma que em ratos, estes compostos podem ser encontrados nos tecidos do estômago, jejuno, fígado, rins, cérebro e plasma , e nos humanos estes

compostos são encontrados na urina, tanto na forma intacta, quanto em alguns metabolitos metilados, glicuronizados, sulfoconjugados e aglicones.

2.4. Caracterização Botânica

2.4.1 Moráceas

As moráceas compreendem cerca de 70 gêneros e mais de 1.500 espécies distribuídas nas regiões tropicais e subtropicais do mundo. São árvores, arbustos e menos comumente ervas, de porte ereto ou trepador.

As folhas simples e pecioladas são alternas, raramente opostas. O limbo pode ser inteiro (*Ficus luschnathiana*), dentado (*Sorocea bonplandii*), lobulado (*Ficus carica*), glabro (*Ficus guaranítica*), ou pubescente (*Ficus carica*) e de consistência coriácea ou papirácea.

As flores, monóclicas ou díclinas, são pequenas e dispostas em espigas ou sicôneos. Os frutos, drupáceos ou aquênios, reúnem-se frequentemente em infrutescências carnosas.

A madeira das moráceas apresenta uma estrutura relativamente evoluída (MARCHIORI,1997).

2.4.2 *Morus nigra* L.

A *Morus nigra* L., Moraceae, é uma espécie vegetal que tem sua origem na Ásia, frutificando com maior intensidade e abundância sobretudo na Ásia Menor e estando plenamente aclimatizada no Brasil (CRUZ, 1979).

Marchiori (1997), afirma que a *Morus nigra* L. é considerada uma das principais espécies Moráceas de interesse dendrológico para o sul do Brasil. E, ainda, cita que a planta é uma importante árvore frutífera, com árvores de 5 a 20 m de altura, folhas bastante grossas, simples e alternas, cordiformes, simétricas na base, de cor verde escura, pecíolos curtos, ásperas, com dentes largos e regulares,

estípulas longas, membranosas e felpudas. O tronco é curto, copa globosa, folhagem caduca e casca castanho-escuro, muito fibrosa e com fissuras. O ápice dos ramos, de cor verde-clara e com lenticelas conspícuas, exsuda látex ao ser cortado (MORGAN, 1982).

As folhas, alternas, simples e oval-cordadas, medem de 7 a 18 cm de comprimento por cerca de 8 cm de largura, tendo ápice acuminado, margem irregularmente denteada, base nitidamente cordada e pecíolo com cerca de 2 cm. Verde escuras ásperas e de nervuras pilosas na face superior, são de cor mais clara e vilosas na face inferior (MARCHIORI,1997).

As flores estão em amentilhos distintos. Os masculinos são verde-claros, curtos e relativamente espessos. Os femininos são ainda mais curtos do que os masculinos (MARCHIORI,1997).

3 METODOLOGIA

3.1 MATERIAL

O experimento foi realizado no Laboratório de Engenharia de Alimentos, da Universidade Federal do Pampa-UNIPAMPA, na cidade de Bagé-RS.

Foram utilizadas amoras-pretas *Morus nigra L.*, de diferentes localidades na cidade de Dom Pedrito- RS. Colhidos entre outubro e novembro de 2013. Os frutos foram colhidos manualmente em diferentes locais, foram escolhidas para coleta árvores de diferentes bairros da cidade e também com diferentes aspectos, como tamanho e localidade. A amostra I foi colhida na rua Coronel Longuinho (bairro Vila Mariana), a amostra II na rua Rui Barbosa (bairro Sagrada Face), a amostra III na rua Andrade Neves esquina com a Ministro Demétrio Xavier (Bairro Centro), a amostra IV na rua Coronel Jacinto Pereira (bairro Santa Terezinha), a amostra V colhida na rua Duque de Caxias esquina Moreira César (Bairro centro) e a amostra VI na rua

3.2 MÉTODOS

3.2.1 Identificação botânica

As espécies de amoreiras foram identificadas com a ajuda de um Botânico.

3.2.2 Determinações físico-químicas gerais do fruto *in natura* de amora-preta

3.2.2.1 Potencial Hidrogeniônico (pH)

Método potenciométrico, realizado conforme as Normas Analíticas do Instituto Adolfo Lutz (1985).

3.2.2.2 Acidez titulável

Método volumétrico, pela titulação com NaOH 0,1N, expressa em % de ácido málico, conforme as Normas Analíticas do Instituto Adolfo Lutz (1985).

3.2.2.3 Sólidos solúveis

Para a verificação dos sólidos solúveis foi realizada a leitura em refratômetro de Abbé, à 20°C, expressos em °Brix conforme as Normas Analíticas do Instituto Adolfo Lutz (1985).

3.2.2.4 Determinação do Potencial Antioxidante

A análise do potencial antioxidante foi realizada através do método de DPPH, adaptado de Brand-Williams et.al., 1995.

Foi preparada a solução com 12 mg de DPPH em 50 ml de metanol. Para a solução Uso, a solução de DPPH foi diluída em 45 ml de etanol com absorvância final de $1,1 \pm 0,02$ à 517nm.

Foi pesada 5g da amostra em tubo falcon e adicionado 20 ml de etanol conforme a figura 3. A amostra foi homogeneizada usando Ultra-turrax até consistência uniforme e armazenada por 24 horas em temperatura de 3-4 °C e depois centrifugada por 15 minutos. Foi adicionado a amostra o extrato e a solução DPPH e lido a absorvância do branco.



FIGURA 3: Análise de atividade antioxidante DPPH: extratos de amostras de amora-preta em tubo falcon, macerando com metanol.

Fonte: GOMES, M.N. (2014)

3.2.2.5 Quantificação de Fenóis Totais

A determinação dos compostos fenólicos totais (CFT) foi realizada pelo método de Folin-Ciocalteu, segundo Singleton e Rossi (1965), com adaptações.

Método de extração: Pesou-se 2 g da amostra, diluiu-se em 20 ml de metanol e colocado em banho maria por 3 horas (Figura 5). A solução foi filtrada com algodão para o balão volumétrico (Figura 6) de 50ml e completado com metanol (Figura 7).

Para quantificação dos fenóis totais foi feita reação colorimétrica.

Procedeu-se à elaboração de uma curva padrão de ácido gálico para a quantificação dos fenóis. Os resultados foram expressos em mg de ácido gálico por 100 g^{-1} de amostra.



FIGURA 4: Determinação de Fenóis Totais: as amostras de amora-preta *Morus Nigra* L em banho a 25°C durante 3 horas.

Fonte: GOMES, M.N. (2014)



FIGURA 5: Determinação de Fenóis totais: filtrando a solução com algodão para o balão volumétrico.

Fonte: GOMES, M.N. (2014)



FIGURA 6: Determinação de Fenóis Totais: balão completo com metanol até o volume de 50 ml.

Fonte: GOMES, M.N. (2014)

3.2.2.6 Quantificação de Antocianinas Totais

A quantificação de antocianinas totais foi realizada segundo o método descrito por Less e Francis (1972).

Método de extração: foi pesada 1 g da amostra (Figura 8), que ficou em repouso por uma hora em béquer de 25 ml de etanol acidificado com HCl até pH 1,0, homogeneizada com agitador magnético neste intervalo de uma hora, a cada 5 minutos conforme figura 9. A amostra foi filtrada com papel filtro e completada o volume de 50 ml com etanol (Figura 10).



FIGURA 7: Determinação de Antocianinas Totais: alicotas das amostras de amora-preta *Morus Nigra* L.

Fonte: GOMES, M.N. (2014)



FIGURA 8: Determinação de Antocianinas Totais: Homogeneização das amostras de amora-preta *Morus Nigra* L com agitador magnético.

Fonte: GOMES, M.N. (2014)



FIGURA 9: Determinação de Antocianinas Totais: Filtragem da amostra de amora-preta *Morus Nigra* L. com papel filtro.

Fonte: GOMES, M.N. (2014)

3.3 Análise Estatística

Todas as determinações foram realizadas em triplicata e os resultados foram avaliados através da análise de variância (ANOVA), e pelo teste de Tukey, ambos ao nível de 5% de significância.

4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os resultados das análises físico-químicas das amostras de amora-preta, localizadas em diferentes regiões da cidade de Dom Pedrito-RS, são apresentados na Tabela 1.

TABELA 1: Valores dos parâmetros estudados: Ph, Acidez Titulável e Sólidos Solúveis entre as amostras de amora-preta *Morus Nigra L.*

AMOSTRAS	Potencial Hidrogeniônico - pH	Acidez Titulável – AT (% de ácido málico)	Sólidos Solúveis - SS (°Brix)
I	3,98 B	1,14 CD	14,3D
II	3,43 D	1,47 C	16,5B
III	4,25 A	0,65 D	18,2 A
IV	4,16 A	2,08 B	13,6 E
V	3,62 C	2,28 B	14,5C
VI	3,22 E	2,97 A	13,6E

*Letras diferentes na mesma coluna indicam diferença significativa pelo Teste de Tukey ($p \leq 0,05$).

Pelos resultados, observa-se que houve diferença significativa ($p \leq 0,05$) entre as amostras de amora-preta quanto ao pH, sólidos solúveis, acidez total titulável.

Os resultados encontrados para pH ficaram entre 3,22 e 4,25, sendo o menor valor para a amostra VI e o maior valor para a amostra III, ademais, esta não diferiu estatisticamente ($p \leq 0,05$) da amostra IV, porém as demais diferiram entre si. Os resultados podem ser comparados a um estudo realizado por Mota (2006), na Estação Experimental da EPAMIG, Minas Gerais, com os cultivares 'Guarani', 'Tupy' e 'Cherokee', que apresentaram pH entre 3,2 e 3,4, resultados semelhantes ao

encontrado neste trabalho. Os mesmos valores encontram-se baixo em relação a um estudo feito por Guedes et al. (2013), em que encontraram valores na cultivar 'Tupy' de 2,96 e uma média entre as demais cultivares estudadas de 2,95. Ainda, em estudos feitos por Hirsch et al. 2012. Os valores de pH das amoras-pretas ficaram na faixa entre 2,78 e 3,08, também baixos comparado aos resultados encontrados neste estudo.

A medida do potencial hidrogenônico (pH) é importante para as determinações de deterioração do alimento com o crescimento de micro organismos, atividade das enzimas, retenção de sabor e odor de produtos, e escolha de embalagem (CECCHI 2003). O mesmo autor ainda diz que ácidos orgânicos presentes em alimentos influenciam o sabor, odor, cor, estabilidade e manutenção de qualidade.

O pH é uma característica imprescindível para a industrialização da fruta. Segundo a CETEC (1985), o pH ótimo para a formação do gel, na fabricação de geleias, é de 3,0 a 3,2. Sendo as amoras próprias para formulação de geleias, um ótima maneira de gerar renda para população, já que as árvores encontram-se nos canteiros da cidade.

Com relação à acidez titulável (AT), o maior valor foi encontrado na amostra VI (2,97% de ácido málico) que diferiu estatisticamente ($p \leq 0,05$) das demais, enquanto a amostra I não diferiu das amostras II e III e amostra IV e V, também, não apresentaram diferença. Os maiores resultados ficam acima dos resultados encontrados por Chim (2008), no estudo de caracterização de compostos bioativos em amora-preta (*Rubus sp.*) e sua estabilidade no processo e armazenamento de geleias convencional e *light*, que ficaram entre 0,95% e 1,33% de ácido málico, nas cultivares 'Tupy', 'Guarani' e 'Brazos'.

A determinação da acidez total em alimentos é bastante importante tendo em vista que através dela, podem-se obter dados valiosos na apreciação do processamento e do estado de conservação dos alimentos. O teor de acidez natural é representado principalmente pela presença do ácido málico, que é o ácido orgânico majoritário em amora-preta (ESTEVE, 2005).

O teor em ácido málico pode ser uma explicação para os diferentes valores das amostras em função do grau de maturação do fruto nos pontos de coleta, uma vez que à medida que o fruto perde água e gasta suas reservas, teor de ácidos presentes diminui. Esteve et al. (2005), afirmam que o aumento da acidez é um indício do início de deterioração ou fermentação da amostra. A manutenção da acidez da fruta é importante porque garante sabor e odor ao produto, quanto maior o tempo de armazenamento, menores os valores apresentados pelos frutos (CECCHI,2003). Logo, a manutenção da acidez do fruto é muito importante porque garante sabor e odor ao produto (Chitarra e Chitarra, 1990).

Com relação aos sólidos solúveis (SS), a amostra III apresentou maior valor (18,2ºBrix), seguida pela amostra II (16,5ºBrix), enquanto as demais mostraram valores em média de 13,6 à 14,3ºBrix. Estatisticamente, todas as amostras diferiram ($p \leq 0,05$) entre si, com exceção das amostras IV e VI não diferiram ($p \leq 0,05$) entre si. Hirsh et al. (2011), estudando diferentes cultivares de amora-preta, encontraram valores de 10,1ºBrix para a cultivar 'Tupy', valores inferiores aos encontrados neste trabalho.

Os sólidos solúveis presentes na polpa dos frutos incluem importantes compostos responsáveis pelo sabor e pela consequente aceitação por parte dos consumidores. Os mais importantes são os açúcares e os ácidos orgânicos (Embrapa, 2007).

Resende (2010), afirma que o teor de sólidos solúveis nas frutas é de grande importância também para o processamento industrial, visto que elevados teores desses constituintes na matéria-prima implicam menos adição de açúcares, menos tempo de evaporação da água, menos gasto de energia e maior rendimento do produto, resultando em maior economia no processamento.

Como os frutos pequenos possuem uma grande área de superfície exposta ao ambiente, há uma alta taxa de perda de água, principalmente durante o armazenamento refrigerado. A porcentagem dessa perda de massa pode variar em função do aumento do período de armazenamento (SILVEIRA et al., 2007), o que explicaria as diferenças apresentadas entre os estudos. Segundo Jeronimo & Kaneshiro (2000), o aumento de sólidos solúveis totais é decorrente da transformação

das reservas acumuladas durante a formação e o desenvolvimento desses sólidos em açúcares solúveis.

TABELA 2: Atividade Antioxidante DPPH nas amostras de amora-preta *Morus Nigra* L.

Amostras	Atividade antioxidante DPPH (% de inibição)
I	79,82 A
II	72,68 AB
III	57,50 C
IV	65,07 BC
V	59,80 C
VI	32,49 D

* Letras diferentes na mesma coluna indicam diferença significativa pelo Teste de Tukey ($p \leq 0,05$).

Segundo a determinação do potencial antioxidante, pelo método de DPPH, as amostra I não diferiu estatisticamente ($p \leq 0,05$) da amostra II, mas diferiu das demais, a amostra II não diferiu das amostras I e IV, mas diferiu das demais, a amostra III não diferiu das amostras IV e V, mas diferiu das demais, a amostra IV não diferiu das amostras II, III e V, diferindo das demais, a amostra V não diferiu das amostras III e IV e a amostra VI mostrou diferença significativa ($p \leq 0,05$) comprada ao resto das amostras, que ficaram entre 32,49% a 79,82%. Chim (2008), verificou que em testes de DPPH realizados estudando extratos de 3 cultivares de amora-preta demonstraram que os extratos das cultivares 'Guarani' e 'Tupy' apresentaram os maiores valores de capacidade antioxidante 89,3 a 90,8 %, não apresentando diferenças significativas entre si. Provavelmente estes autores obtiveram resultados superiores, pois suas amostras foram obtidas de pomares na zona rural, diferente das amostras contidas neste estudo.

As propriedades antioxidantes estão muito relacionadas ao tipo de fruta, ou seja, espécie ou cultivares dentro da mesma espécie, e às condições de cultivo das plantas, como ambiente e técnicas de manejo (SCALZO et al., 2005).

Segundo Wang e Lin (2000), existem poucas informações sobre a capacidade antioxidante de frutos em diferentes estádios de desenvolvimento. Esses autores observaram que em estádios de maturação mais avançados de alguns frutos, tais

como amora, morango e framboesa, ocorre um aumento na capacidade antioxidante destes.

Os compostos antioxidantes também são muito importantes na indústria alimentícia, onde atuam principalmente na conservação dos alimentos, aumentando o tempo de estocagem e reduzindo as perdas nutricionais. No entanto, propriedades carcinogênicas tem sido apontadas para os antioxidantes sintéticos. Assim, pesquisas sobre o potencial de aplicação de antioxidantes naturais para proteger os alimentos da oxidação tem recebido maior atenção da comunidade científica (CHEUNG et al, 2003).

TABELA 3: Fenóis Totais nas amostras de amora-preta *Morus Nigra L.*

Amostras	Fenóis Totais (mg de ác. Gálico. ⁻¹ por 100g de fruta)
I	220,92 C
II	196,87 D
III	215,31C
IV	222,63 BC
V	235,14 A
VI	233,55AB

* Letras diferentes na mesma coluna indicam diferença significativa pelo Teste de Tukey ($p \leq 0,05$).

Com relação à quantificação dos Fenóis Totais, estes apresentaram resultados que diferiram estatisticamente ($p \leq 0,05$) na maioria das amostras, variando de 196,87 mg de ác. Gálico.100g⁻¹ de fruta até 235,55 mg de ác. Gálico. 100g⁻¹ de fruta, salvo as amostras III e IV, bem como, as amostras IV e VI que não diferiram entre si, respectivamente. Chim (2008), analisou o conteúdo total de antocianinas e fenóis totais em amora-preta (*Rubus sp.*) das cultivares Guarani, Tupy e Brazos, onde encontrou valores superiores de fenóis totais, 881,42 mg de ác. gálico.g⁻¹ para cultivar Guarani, 569,89 mg de ác. gálico.g⁻¹ para cultivar Tupy e 862,13 mg de ác. gálico.g⁻¹ para cultivar Brazos. FERREIRA et al. (2010), registrou valores de 2,417mg. g⁻¹ para fenóis totais em amoras maduras oriundos do Estado de São Paulo. Resultados superiores e inferiores aos encontrados neste trabalho.

Os compostos fenólicos são instáveis podendo sofrer degradação durante as diversas etapas do processamento, armazenamento e estocagem de alimentos (ELISIA et al., 2007). Ademais, as amostras deste estudo foram colhidas de árvores na zona urbana, tal realidade deve ser levada em consideração, visto que as características de sombreamento (devido às construções do entorno), a falta de cuidados das plantas, condições de solo muitas vezes pouco nutritivo, podem interferir no acúmulo destes compostos nas plantas.

TABELA 4: Antocianinas Totais em amostras de amora-preta *Morus Nigra L.*

Amostras	Antocianinas Totais (mg de cianidina-3-glicosídeo.100g ⁻¹)
I	79,54 C
II	66,88 D
III	47,97 E
IV	74,17 C
V	88,94 B
VI	99,99 A

* Letras diferentes na mesma coluna indicam diferença significativa pelo Teste de Tukey ($p \leq 0,05$).

Quando tratamos os resultados da quantificação de antocianinas totais que ficaram entre 47,97 e 99,99 mg de cianidina-3-glicosídeo.100g⁻¹ de fruta, a diferença significativa ($p \leq 0,05$) encontrada foi entre praticamente todas as amostras, com exceção das amostras I e IV que não diferiram entre si, . Todas as amostras apresentaram resultados inferiores (194,59 mg.100g⁻¹) ao obtido por Mota (2006) e (158,21 mg.100g⁻¹) encontrado por Silva (2007) ambos para a cultivar Guarany.

Estudos realizados por Wang e Lin (2000) com frutos de amora-preta, framboesa e morango, indicaram que os frutos maduros de framboesa preta e de amora-preta, constituem fontes ricas em antocianinas (197,2 e 152,8 µg cianidina-3-glic.g⁻¹ fruta, respectivamente) quando comparados com frutos maduros de framboesa vermelha (68,0µg cianidina-3-glic.g⁻¹) e de morango (31,9µg cianidina-3-glic.g⁻¹).

As diferenças observadas quanto ao conteúdo de antocianinas totais podem também estar relacionadas com as variações genéticas, condições ambientais durante o desenvolvimento do fruto, lembrando a condição das amostras deste estudo, o qual foram obtidas de plantas da zona urbana que não tinham qualquer manejo de produção, e devido à ação enzimática na pós-colheita, principalmente devido a processos oxidativos das polifenoloxidasas. Por outro lado, a degradação desses pigmentos pode também ser favorecida por ação enzimática, tendo em vista que a polpa não foi submetida a tratamento térmico algum para provocar a inativação das enzimas presentes.

A cor é um importante parâmetro para produtores e consumidores, pois indica se a fruta apresenta ou não as condições ideais para comercialização e consumo. Porém, a cor, na maioria dos casos, não contribui para um aumento efetivo no valor nutritivo ou qualidade do produto (CHITARRA& CHITARRA, 2005).

Ao verificar os trabalhos que mostram os teores de antocianinas (e outros pigmentos) é possível verificar que não há padrão de aumento ou diminuição dos mesmos, sendo o comportamento distinto entre frutos de diferentes cultivares inclusive. Com base nos valores relatados na literatura sobre o conteúdo de antocianinas, e a grande variação entre os diferentes materiais genéticos, existe um grande potencial na produção de amora-preta visando a obtenção de corante natural para a indústria alimentícia e de medicamentos (EMBRAPA CLIMA TEMPERADO, 2008).

Wang e Lin (2000) afirmam que em estádios de maturação mais avançados de alguns frutos, tais como amora, morango e framboesa, ocorre aumento na capacidade antioxidante destes frutos. Apesar desse aspecto nutricional relevante relacionando grau de maturação e propriedades antioxidantes, normalmente o estágio de maturidade do fruto é baseado apenas na avaliação da cor superficial dos frutos.

5 CONCLUSÃO

As amoras-pretas avaliadas apresentaram diferença significativa ($p \leq 0,05$) entre a maioria das amostras para os valores do pH, acidez titulável, sólidos solúveis, atividade antioxidante, fenóis totais e antocianinas totais. Ainda assim, os resultados deste estudo mostram uma quantidade significativa de compostos fenólicos, antocianinas e atividade antioxidante na amora-preta, denotando que mesmo um fruto que se desenvolve na zona urbana e sem manejo adequado, pode ser uma importante fonte destes compostos.

Sendo a amora preta um fruto rico em nutrientes, deve-se buscar métodos para utilização e conscientização da importância da inclusão de frutas como esta na alimentação, sendo na forma *in natura* ou como sucos e geléias. O fruto da amoreira preta além de alta qualidade nutricional e valor econômico significativo poderia ser vendido no mercado e utilizado, também, para o processamento de polpa de frutas, diversificando a economia da região, pela consolidação da agroindústria, pois a mesma acaba decompondo-se por falta de utilização.

Ainda, a Universidade da Região do Pampa- UNIPAMPA, juntamente com grupos de pesquisa, pode trabalhar com estas amoras na formulação geleias, sorvetes e iogurtes devido ao pH ideal e ao alto teor de sólidos solúveis encontrados nos frutos.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

AJILA, C. M.; NAIDU, K. A.; BHAT, S. G.; PRASADA RAO, U. J. S. **Bioactive compounds and antioxidant potential of mango peel extract**. Food Chem., London, v. 105, n. 3, p. 982, 2007.

ANTUNES, L.E.C.; CHALFUN, N.N.J.; REGINA, M. de A.; DUARTE FILHO, J. Fenologia e produção de variedades de amora-preta nas condições do planalto de Poços de Caldas. **Revista Brasileira de Fruticultura**, Jaboticabal, v.22, n.1, p.89-95, 2000.

ANTUNES, I. E. C. Amora - Preta: nova opção de cultivo no Brasil. **Ciência Rural**, Santa Maria, v. 32,n. 1, p.151-158, 2002.

BRAND-WILLIAMS, W.; CUVELIER, M. E.; BERSET, C. Use of a free radical method to evaluate antioxidant activity. **Food Science and Technology**, v, 28, p. 25-30,1995.

CECCHI, H. M. **Fundamentos teóricos e práticos em análises de alimentos**. 2. ed. Campinas: Editora da Unicamp, 2003.

CETEC. **Manual para fabricação de geleias**. Belo Horizonte: CETEC, 1985. Caps. 3 e 4, p. 17-30.

CHEUNG, L. M., et al. **Antioxidant activity and total phenolics of edible mushroom extracts**. Food Chem; v.80, n.2, p.249-255, 2003.

CHIM, J. F. **Caracterização de compostos bioativos em amora-preta (Rubus sp.) e sua estabilidade no processo e armazenamento de geleias convencional e light**. 2008. Tese (Doutorado em Ciência e Tecnologia Agroindustrial) – Faculdade de Agronomia. Universidade Federal de Pelotas, Pelotas.

CHITARRA, M.I.F.; CHITARRA, A.B. **Pós-colheita de frutos e hortaliças: fisiologia e manuseio**. Lavras: UFLA, 2005. 785p.

Claro R M, Carmo HCE, Machado FMS, Monteiro CA. **Renda, preço dos alimentos e participação de frutas e hortaliças na dieta.** *Rev Saude Publica* 2007;41(4):557-564.

Cruz GL 1979. **Dicionário de plantas úteis no Brasil.** Rio de Janeiro: Civilização Brasileira. 599 p.

DAUBENY, H. A. Brambles. in: MOORE, J. N.;JANICK, J. (Ed.). **Fruit breeding.** London: John Willey, 1996. v. 2, p. 109-190

DING, M.; FENG, R.; WANG, S.Y.; BOWMAN, L.; LU, Y.; QIAN, Y.; CASTRANOVA, V.; JIANG, B-H.; SHI, X. **Cyanidin-3-glucoside, a Natural Product Derived from Blackberry, Exhibits Chemopreventive and Chemotherapeutic Activity.** *Jour. of Biological Chem.*, Maryland, v. 281, n. 25, p. 17359-17368, 2006.

Duarte-Almeida, **Avaliação da atividade antioxidante,** *Ciênc. Tecnol. Aliment.*, Campinas, 26(2): 446-452, abr.-jun. 2006.

ELISIA, I. **Antioxidant assessment of an anthocyanin-enriched blackberry extract.** *Food Chemistry*, v. 101, p. 1052-1058, 2007.

Empresa Brasileira de Pesquisa e Agropecuária-EMBRAPA. 2005-2007.

(http://www.agencia.cnptia.embrapa.br/Agencia22/AG01/arvore/AG01_147_24112005115227.html) acessado em 24 de junho de 2014.

ESTEVE, M.J.; FRÍGOLA, A.; RODRIGO, C.; RODRIGO, D. Effect of storage period under variable conditions on the chemical and physical composition and colour of Spanish refrigerated orange juices. **Food and Chemical Toxicology**, v.43, n.9, p. 1413-1422, 2005.

FACCHINELLO, J. C.; HOFFMANN, A.; SANTOS, A. M. dos. **Amoreira-preta, framboesa e mirtilo: pequenos frutos para o sul do Brasil.** in: Congresso Brasileiro de Fruticultura, 13., 1994, Salvador. Anais... Vitória da Conquista: Sociedade Brasileira de Fruticultura, 1994. v. 3, p. 989-990.

FALCÃO,L,D; BARROS,D.M.**Copigmentação intra e intermolecular de antocianinas:** Uma revisão. Bol. Centro Pesquisa Process. Alimentos 21(2); pg:351-36, 2003.

FERREIRA, D. S. **Compostos bioativos em amora-preta e encapsulação do seu extrato antociânico por gelificação térmica com curdlana.** 2008. Dissertação (Mestrado em Ciência dos Alimentos) - Faculdade de Engenharia de Alimentos, Universidade Estadual de Campinas, Campinas, 2008.

FRANCO, Amanda Da Silva; CASTRO, Inês Rugani Ribeiro De and WOLKOFF, Daisy Blumenberg. **Impacto da promoção sobre consumo de frutas e hortaliças em ambiente de trabalho.** *Rev. Saúde Pública* [online]. 2013, vol.47, n.1, pp. 29-36. ISSN 0034-8910.

GIBNEY, M. J; MACDONALD, I. A; ROCHE, H. M. **Nutrição e metabolismo.** Rio de Janeiro: Guanabara Koogam, 2006.

Google maps <https://www.google.com.br/maps/preview>. Acessado em abril de 2014.

GRANADA, G. L.; VENDRUSCOLO, J. L.; TREPTOW, R. O. **Caracterização Química e Sensorial de Sucos Clarificados de Amora-Preta** (*Rubus* spp. L.) *Revista Brasileira de Agrociência*, Pelotas, v.7, n. 2, p. 143-147, 2001.

GUEDES, M. N. S.; ABREU, C. M. P.; MARO, L. A. C.; PIO, R.; ABREU, J. R.; OLIVEIRA, J. O. Chemical characterization and mineral levels in the fruits of blackberry cultivars grown in a tropical climate at an elevation. **Acta Scientiarum. Agronomy** Maringá, v. 35, n. 2, p. 191-196, 2013.

HEIDEN, G.; BARBIERI, R. I. ; GARRASTAZÚ,M. C.; GARCIA, I. o.; MAIA, M. B. **ocorrênciade espécies nativas de amora no Rio Grande do Sul.**

Hirsch et al.,Caracterização físico-química de variedades de amora-preta da região sul do Brasil., **Ciência Rural**, v.42, n.5, mai, 2012.

Jaime PC, Machado FM, Westphal MF, Monteiro CA. **Educação nutricional e consumo de frutas e hortaliças: ensaio comunitário controlado.** *Rev Saúde Pública* 2007; 41:154-7

JERONIMO, R. F.; KANESIRO, M. A. B. **Efeito da associação de armazenamento sob refrigeração e atmosfera modificada na qualidade de mangas 'Palmer'**. Revista Brasileira de Fruticultura, Jaboticabal, v. 22, n. 2, p. 237-243, 2000.

KING, A. R.D.; YOUNG, G. E.de D. **Characteristics and occurrence of Phenolic phytochemicals**. Journal of American Dietetic Association, v. 99, n. 2, p. 213-218, 1999.

Kuskoski, E. M.; Asuero, A. G.; Troncoso, A. M.; Mancini-Filho; Fett, R.; *Ciênc. e Tec. de Alimentos* **2005**, 25, 726.

LESS,D.H.;FRANCIS,F.J. Standardization of pigment analysis in Cramberries. *Hortiscience*,Alexandria,vol. 7,n. 1, p. 83-84,1972.

LIMA, V.L.A.G.; MÉLO, E.A.; LIMA, L.S. et al. **Polpa congelada de acerola: efeito da temperatura sobre os teores de antocianinas e flavonóis totais**. Revista Brasileira de Fruticultura, Jaboticabal, v.24, n.3, p.669-670, 2002b.

LOCK K, POMERLEAU J, CAUSER L, ALTMANN DR, MCKEEM. The global burden of disease attributable to low consumption of fruit and vegetables: implications for the global strategy on diet. *Bull World Health Organ.* 2005;83(2):100-8.

LUTZ. **Normas analíticas do Instituto Adolf Lutz: métodos químicos e físicos para análise de alimentos**. 3.ed. São Paulo, v.1, 1985. 533p.

MACHADO,A.D.O. **Produção de amora preta 2007**. Disponível em :<<http://www.sbrt.ibict.br>>. Acesso em: 11 jun. 2014. Produção de amora preta 2007

MARCHIORI, J.N.C. **Dendrologia das Angiospermas: Das Magnoliáceas às Flacurtiáceas**. Santa Maria: Ed. da UFSM, 1ed. 1997. 274pp.

Morgan R 1982. **Enciclopédia das ervas e Plantas Medicinais**. São Paulo: Hemus editora. 555 p.

MOREIRA, A.V. B.; MANCINI-FILHO, J. **Influência dos compostos fenólicos de especiarias sobre a lipoperoxidação e o perfil lipídico de tecidos de ratos.**

Rev. Nutr., Campinas, v. 17, n. 4, p. 411-240, 2004

MOTA, R. V. **Caracterização física e química de geleia de amora-preta.** Ciência e Tecnologia de Alimentos, Campinas, v.26, n.3, p.539-543, 2006.

Nakamura Y, Watanabe S, Miyake N, Kohno H, Osawa T 2003. **Dihydrochalcones: evaluation as novel radical scavenging antioxidants.** J Agr Food Chem 51: 3309-3312.

NARAYANA, K. R., et al. Bioflavonoids classification, pharmacological, biochemical effects and therapeutic potential. **Indian Journal of Pharmacology**, v. 33, p. 2 - 16, 2001.

OMS - ORGANIZAÇÃO MUNDIAL DA SAÚDE. **Obesity preventing and managing the global epidemic.** Genebra,1997.

PAWLOSKEY, R.J. et al. **Essential fatty acid uptake and metabolism in the developing rodent brain.** Lipids, v. 31, suppl, p.S103-S107, 1996.

Poling, E. B. Blackberries. **Journal of Small Fruit and Viticulture**, Beltsville, v. 14, n. 1-2, p. 38-69. 1996.

RESENDE JTV; MORALES RGF; FARIA MV; RISSINI ALL; CAMARGO LKP; CAMARGO CK. 2010. **Produtividade e teor de sólidos solúveis de frutos de cultivares de morangueiro em ambiente protegido.** Horticultura Brasileira 28: 185-189.

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

SANTOS, A.M.; RASEIRA, M.C.B. **Lançamento de cultivares de amoreira-preta.** Pelotas: EMBRAPA - CNPFT, 1988. n.p. (EMBRAPA: Informativo 23).

SCALZO, J.; POLITI, A.; PELLEGRINI, N.; MEZZETTI, B.; BATTINO, M. **Plant genotype affects total antioxidant capacity and phenolic contents in fruit.** **Nutrition, los Angeles**, v. 21, p. 207–213, 2005.

Sichieri R, Moura EC. Análise multinível das variações no índice de massa corporal entre adultos, Brasil, 2006. **Rev Saude Publica 2009**; 43(2):90-97.

SILVA, R. da S e. **Potencial antioxidante correlacionado com fenóis totais e antocianinas de cultivares de mota-preta, mirtilo, morango e pêssego.** Dissertação em Ciência e Tecnologia Agroindustrial, Pelotas, 2007. 58 f.

SILVEIRA, N. G. A; VARGAS, P. N.& ROSA, C. S. **Teor de polifenóis e composição química do mirtilo do grupo Highbush**. Alim. Nutr. 2007, v.18, n.4, p. 365-370.

SINGLETON, V.L.; ROSSI, J.A.Jr. Colorimetry of total phenolics with phosphomolybdic-phosphotungstic acid reagents. **American Journal of Enology and Viticulture**, Davis, v.16, n.3, p.144-158, 1965..

SOARES, S. E. **Ácidos fenólicos e antioxidants**. Revista de Nutrição, v. 15, p. 71-81 2002.

Steinmetz KA, Potter JD. **Vegetables, fruit, and cancer prevention: a review**. J Am Diet Assoc 1996; 96:1027-39.

TALAVERA, S. V.; FELGINES, C.; TEXIER, O.; BESSON, C.; GIL-IZQUIERDO, A.; LAMAISON, J-L.; REMESY, C. **Anthocyanin metabolism in rats and their distribution to digestive area**, kidney, and brain. Jour. of Agr. and Food Chem., Washington, v. 53, n. 10, p. 3902-3908, 2005.

Tua Saúde, <http://www.tuasaude.com/amoreira-negra/> Acessado em 19 de Dezembro de 2014.

VELOSO, I.S.; SANTANA, V.S. Impacto nutricional do programa de alimentação do trabalhador no Brasil. **Rev Panam Salud Publica**, 11(1):24-31, 2002.

VIZZOTO, M. **Amora-preta: uma fruta antioxidante**. Artigo de Divulgação na Mídia Embrapa Clima Temperado, 2008.

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

World Health Organization (WHO). **Diet, nutrition and the prevention of chronic diseases**. Report of a Joint FAO/WHO Consultation. Geneva: WHO; 2003. [acessado 2014 jun 16]. Disponível em: http://whqlibdoc.who.int/trs/WHO_TRS_916.pdf

YING, G.; ZHAO, C. M.; JUN, W. on **Rubus resources in Human and Fujian provinces**.in: INTERNATIONAL HORTICULTURAL CONGRESS, 23., 1990, Florence. Anais... p. 40

ZADERNOWSKI, R.; NACZK, M.; NESTEROWICZ, J. **Phenolic Acid in some Small Berries**. J. Agric. Food Chem., v.53, p.2118-2124, 2005.