AVALIAÇÃO DA CAPACIDADE ANTIOXIDANTE EM FRUTAS PRODUZIDAS NA REGIÃO SUL DO RS

EVALUATION OF THE ANTIOXIDANT CAPACITY IN THE FRUITS CULTIVATED IN THE SOUTH OF RS

Roberta S. Silva¹; João L. Vendruscolo²; Ricardo P. Toralles^{3*}.

RESUMO

A capacidade antioxidante e sua correlação com fenóis e antocianinas foi estudada em cultivares de amora-preta, morango e mirtilo. As frutas foram colhidos no estádio de maturação provenientes do Programa de Melhoramento Genético da Embrapa Clima Temperado, Pelotas-RS, e foram imediatamente congeladas por submersão em nitrogênio líquido e armazenadas a -18°C até o momento do preparo das amostras. O desenho experimental foi completamente casualizado, com três repetições de cinco frutos. Os resultados foram analisados por ANOVA e as diferencas significativas foram analisadas usando teste de Tukey. A capacidade antioxidante dos extratos das frutas (TEAC) foi medida pelo monitoramento da mudança na absorbância do radical livre a 515nm pelo método DPPH e 734nm pelo método ABTS, e, expressa em umoles de equivalentes de Trolox. 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 7,72µmols de TE/g de fruta para as cvs. de morango; e de 4,3 a 7,26 µmols de TE/g de fruta para as cvs. de mirtilo. Para morango e amora-preta, encontrou-se correlação direta entre fenóis totais e capacidade antioxidante, enquanto que para antocianinas totais correlacionaram-se com capacidade antioxidante para todas cultivares de amora-preta. Entre as frutas avaliadas, a cv. Xavante de amorapreta foi superior para capacidade antioxidante, sendo que os métodos TEAC-ABTS e TEAC-DPPH mostraram-se equivalentes.

Palavras-chave: fenóis totais, antocianinas, trolox e correlação.

ABSTRACT

The antioxidant capacity and its correlation with phenols and total anthocyanins among blackberry cultivars, strawberry and bluberry was studied. Mature and sound appearance fruits were picked from an experimental orchard of the Program of Genetic Improvement of Embrapa Temperate Climate, Pelotas-RS. Fruits were immediately frozen for submersion in liquid nitrogen and stored in freezer at -18°C until the sample preparation. The experimental design used was a completely randomized design, with fifteen fruits that were divided into three replications of five fruit each. The results were analyzed by ANOVA, and significant differences were determined using Tukey's test. The antioxidant capacity (TEAC) was measured by the DPPH method at 515nm ABTS method at 734nm, and expressed in micromolar of trolox equivalent (µM TE). The values of TEAC-DPPH ranged from 7.06 to 13.22µM TE/FW to blackberries, from 5.17 to 7.72 to strawberries, and from 4.3 to 7.26 to blueberries 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.

Key Words: total phenolics, anthocyanins, trolox and correlation.

(Recebido para Publicação em 22/07/2008, Aprovado em 04/03/2011)

¹ Química, aluna de Mestrado do Programa de Pós-Graduação em Ciência e Tecnologia Agroindustrial/FAEM/UFPEL.

² Engenheiro de Alimentos, Dr. Pesquisador da Embrapa Clima Temperado – Pelotas-RS. ³* Engenheiro Químico, Dr. Ciência e Tecnologia Agroindustrial. Prof. do Departamento de Química –CEFET-RS, e-mail: torashow@cefetrs.tche.br.

INTRODUÇÃO

Estudos mostram que o consumo de frutas in natura ou na forma de suco, com alto conteúdo de compostos fenólicos e carotenóides, reduz risco de doenças cardio- e cerebrovasculares, regula o sistema imunológico (PAIVA & RUSSELL, 1999), processos carcinogênicos (HERTOG et al., 1997; SLATTERY et al., 2000; NIJVELDT et al., 2001) e protege contra algumas doenças típicas do envelhecimento, tais como, cataratas e degeneração macular (BROWN et al., 1999; KHACHIK et al. 2002). Os efeitos benéficos podem estar relacionados com a capacidade antioxidante e a habilidade em combater radicais livres (MANGIAPANE et al., 1992; ; GIL et al., 2000, NIJVELDT et al., 2001).

Frutas contém diferentes tipos de compostos fenólicos, incluindo derivados do ácido hidroxicinâmico, flavan-3óis, flavonóides e antocianinas (TOMÁS-BARBERÁN et al., 2001; MAZZA et al., 2002; AYALA-ZAVALA, 2004; WU & PRIOR, 2005). Os compostos fenólicos usualmente são expressos como fenóis totais, sendo, amplamente citada, sua quantificação colorimétrica com o reagente Folin-Ciocalteau (SINGLETON & ROSSI, 1965; MEREDITH et al., 1989; GIL et al., 2000, ZHENG et al., 2007). Deve-se ressaltar que esses compostos desempenham um papel relevante na qualidade de frutos frescos e processados, estando envolvidos com a cor do exocarpo, o escurecimento enzimático e não enzimático, a adstringência do mesocarpo e o sistema de defesa da planta (CHENG & CRISOSTO,1995; SKREDE; WROLSTAD, 2002; GRAMZA & KORCZAK, 2005).

A capacidade antioxidante pode ser definida como a habilidade que um composto possui de reduzir espécies pró-oxidantes, sendo que diversos métodos vem sendo desenvolvidos (PRIOR & CAO,1999). O método do DPPH (2,2-difenil-1-picrilhidrasil, DPPH) e do ABTS (2,2-azinobis-3-etilbenzotiazolina-6-ácido sulfônico) são amplamente citados como uma forma rápida, fácil e sensível de avaliar a capacidade antioxidante (BRAND-WILLIAMS et al., 1995; PRIOR & CAO, 1999; SÁNCHEZ-MORENO, 2002; GIL et al., 2002; PRIOR, WU & SCHAICH, 2005; OZGEN, 2006).

A região sul do Rio Grande do Sul possui características de clima e solo favoráveis para o cultivo de pequenas frutas como o morango, amorapreta e mirtilo. Devido à crescente comercialização e consumo dessas frutas e ao pouco conhecimento sobre seus potenciais como pró-antioxidantes, objetivou-se avaliar a capacidade antioxidante e sua correlação com fenóis e antocianinas entre cultivares de amora-preta, morango e mirtilo.

MATERIAIS E MÉTODOS

Frutas

Foram utilizados frutos de amora-preta das cvs. Comanche, Cherokee, Chocktaw, Caingangue, Tupi, Guarani e Xavante; mirtilos das cvs. Alice Blue, Blue Belle, Bluegem, Powder Blue, Brite Blue, Delite, Florida, Clímax e Woodard; morangos das cvs. Camino Real, Camarosa, Diamante e Ventana; todos da safra provenientes 2005/2006 e do Programa de Genético da Melhoramento Embrapa Clima Temperado de Pelotas-RS. Selecionaram-se frutas sem defeitos e de aspecto maduro, as quais foram imediatamente congeladas por submersão nitrogênio líquido e armazenadas em congelador com temperatura em torno de -18°C até o momento do preparo das amostras.

Preparo das amostras

O teor de antocianinas, fenóis totais e capacidade antioxidante foram determinados com quinze frutos divididos em três repetições de cinco frutos cada. Estas foram moídos em um triturador centrífugo Wallita, 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 foi filtrado através papel Whatman No.1, obtendo-se um suco centrifugado e filtrado que foi distribuído em tubos de 10 mL, lacrados e congelados a -20°C para posterior análises em duplicata.

Fenóis totais

O teor de fenóis totais do suco extraído das frutas foi determinado segundo o método de SINGLETON & ROSSI (1965). Uma alíquota de 1mL de suco foi recolhida em um balão volumétrico de 100mL, no qual adicionou-se 60mL de água deionizada e 5mL de Folin-Ciocaulteau. Após, deixou-se o meio reacional em repouso por 8 minutos e 20mL de carbonato de sódio a 20% p/v foi adicionado. Completou-se o volume com água deionizada. Após 2 horas, uma alíquota do meio reacional foi retirada para medir a absorbância em espectrofotômetro à 725nm. A concentração de fenóis totais foi determinada através da Equação 1:

$$FT = \frac{A \times MM \times 10^5}{\varepsilon}$$

(1) onde A é absorbância, MM é massa molecular do ácido gálico (188,14g/mol), ε é absortividade molar₃₉₃

(20.500 L.mol⁻¹. cm⁻¹). Os resultados foram expressos em microgramas de ácido gálico por grama de fruta, μg.g⁻¹ GAE.

Antocianinas

O teor de antocianinas do suco foi determinado pelo método de LEES & FRANCIS (1972). Recolheuse cerca de 1g de suco em um béquer de 100mL, no qual adicionou-se 25,0 mL de etanol a pH de 1,0. A mistura permaneceu sob agitação por 1 hora e logo após, filtrou-se com papel Whatman nº 26 e transferido para balão volumétrico de 50,0 mL, completando o volume com etanol pH 1,0. Uma alíquota da mistura foi retirada para medida da absorbância em espectrofotômetro à 520nm. A concentração de antocianinas totais foi determinada através da Equação 2:

Equação 2:
$$AT = \frac{A \times FD}{98,2}$$

(2)

onde A é a absorbância e FD é o fator de diluição.

Capacidade antioxidante relativa

A capacidade antioxidante relativa foi determinado segundo o método de OZGEN (2006) em termos de capacidade antioxidante equivalente ao Trolox (TEAC) em 2,2-difenil-1-picrilhidrasil (DPPH) e 2,2-azinobis-3-etilbenzotiazolina-6-ácido sulfônico (ABTS). Alíquotas de 20μl do suco extraído das frutas foram adicionados a 3 mL da solução do radical livre DPPH e ABTS, ambos a 100μM. Após 30 minutos, fez-se a leitura da absorbância a 515 nm para DPPH e 734 nm para ABTS. Os valores encontrados foram calculados de acordo com a Equação 3:

$$TEAC = \frac{(A_B - A_A)}{\varepsilon} \times \frac{V}{m} \times FD$$

onde A_0 é a absorbância do branco, A_A é a absorbância da amostra, V é o volume de centrifugado em mL , m é a massa de amostra em g, ϵ é absortividade molar do Trolox (188 L.mol⁻¹.cm⁻¹ em DPPH e 219 L.mol⁻¹.cm⁻¹ em ABTS) e FD é o fator de

diluição. Tanto a capacidade antioxidante equivalente ao Trolox em DPPH (TEAC-DPPH) como em ABTS (TEAC-ABTS) foram expressos em micromoles de Trolox por grama de fruta, μmol.g⁻¹ TE.

Estatística

Os coeficientes de regressão foram estimados por regressão linear usando o software STATISTICA (Statsoft, 1998). Quando aplicável, os resultados foram analisados através da comparação das médias feita através do teste de Tukey ($p \le 0,5$) e correlacionados ($p \le 0,5$).

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Fenóis totais, antocianinas e capacidade antioxidante

Na Tabela 1, encontram-se listados os resultados para os teores de antocianinas, fenóis totais e capacidade antioxidante relativa (TEAC-DPPH e TEAC-ABTS) para quatro cultivares de morango. Para o teor de antocianinas, não foi verificada diferença significativa entre Diamante (40,27mg.100g⁻¹), Camino Real (41,71mg.100g⁻¹) e Camarosa (48,32mg.100g⁻¹), sendo que a cultivar Ventana (24,98 mg.100g⁻¹) foi significativamente inferior às demais. Recentemente, SILVA et al. (2007) obtiveram resultados entre 20 e 60 mg.100g⁻¹ para cinco cultivares de morango, entre elas a cv. Camarosa.

Quanto ao teor de fenóis, a cultivar Diamante $(1.301,09\mu g.g^{-1})$ foi significativamente superior às demais (p \leq 0,05). KALT et al. (1999) relataram 864,2 $\mu g.g^{-1}$ para a cv. canadense Kent, próximo ao encontrado para a cv. Camarosa (872,75 $\mu g.g^{-1}$).

A capacidade antioxidante para cv. Diamante foi significativamente superior às demais cultivares com 7,72μmol. g⁻¹ como TEAC-DPPH e 10,43μmol. g⁻¹ como TEAC-ABTS. OZGEN et al. (2006), utilizando os mesmos métodos, encontraram em morangos da cv. americana Honeoye 15,9μmol. g⁻¹ como TEAC-DPPH e 11,5μmol. g⁻¹ como TEAC-ABTS, respectivamente.

Tabela 1. Antocianinas, fenóis totais e capacidade antioxidante relativa de quatro cultivares de morango . Pelotas – RS safra 2005/06

s, saira 2005/06.								
Cultivares	Antocianinas (mg.100g ⁻¹)		Fenóis totais (μg.g ⁻¹ GAE)		TEAC-DPPH (μmols.g ⁻¹ TE)		TEAC-ABTS (μmols.g ⁻¹ TE)	
Camino Real	41,71	а	910,7	bc	5,49	b	7,89	b
Ventana	24,98	b	980,8	b	5,80	b	7,80	b
Diamante	40,27	а	1301,1	а	7,72	а	10,43	а
Camarosa	48,32	а	872,7	С	5,17	b	6,79	b

^{*}Médias seguidas pelas mesmas letras não diferem entre si pelo Teste de Tukey (p ≤ 0,05).

Em cvs. de amora-preta (Tabela 2), a cv. Guarani (158,21mg.100g⁻¹) foi superior para antocianinas seguida pela cv. Brazos (146,70). Além disso, a cv. Guarani também destacou-se para fenóis (1381,4µg de GAE .g¹). Por outro lado, as cvs. Cherokee (790,00) e Chocktaw (793,25) foram significativamente inferiores para fenóis, antocianinas e capacidade antioxidante. WANG & LIN (2000) encontraram 45,3mg.100g⁻¹ de antocininas totais e 1.520 µg de GAE.g⁻¹ de fenóis totais para cv. Earliglow. PLESSI et al. (2007) encontraram um conteúdo médio de

98mg.100g⁻¹ de antocianinas totais para seis diferentes cvs. de amora-preta.

Quanto à capacidade antioxidante (Tabela 2), as cvs. 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) foram significativamente superiores para ambos os métodos, sendo que as cvs Caingangue (13,59 µmols.g $^{-1}$ TE) e Comanche (13,91 µmols.g $^{-1}$ TE) destacaram-se para TEAC-ABTS. OZGEN et al. (2006) encontraram valores para TEAC-DPPH e TEAC-ABTS, iguais a 35 e 19,2 µmols.g $^{-1}$ TE, respectivamente, na cultivar Chester.

Tabela 2. Antocianinas, fenóis totais e capacidade antioxidante relativa de oito cultivares de amora-preta. Pelotas – RS, safra 2005/06.

Salia 2005/00.								
Cultivares	Antocianinas (mg.100g ⁻¹)		Fenóis (μg.g ⁻¹ GAE)		TEAC-DPPH (µmols.g ⁻¹ TE)		TEAC-ABTS (μmols.g ⁻¹ TE)	
Caingangue	120,9	abc	1168,9	ab	10,23	bc	13,59	ab
Cherokee	97,6	С	790,0	b	7,36	cd	8,03	С
Comanche	120,7	abc	980,6	ab	10,09	bc	13,91	ab
Chocktaw	83,6	С	793,6	b	7,06	d	8,61	С
Guarani	158,2	а	1381,4	а	12,03	ab	14,45	ab
Tupi	104,9	bc	927,3	ab	9,89	bcd	11,98	bc
Brazos	146,7	ab	1071,1	ab	11,48	ab	13,44	ab
Xavante	130,2	abc	1269,7	ab	13,22	а	16,52	а

^{*}Médias seguidas pelas mesmas letras não diferem entre si pelo Teste de Tukey (p ≤ 0,05).

Em cvs de mirtilo (Tabela 3), a cv. Bluegem foi

superior para 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 as demais.

Quanto à capacidade antioxidante, a cv. Blue Belle foi superior em ambos métodos, com 7,26 e 7,28 µmols.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 µmols.g⁻¹ TE para TEAC-DPPH e 3,24 µmols.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 μmols.g⁻¹ TE e teor de fenóis igual a 257,9μg.g⁻¹GAE.

Utilizando o método ORAC, EHLENFELDT & PRIOR (2001) relataram um valor médio de 15,9 µmols.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 179mg.100g⁻¹ e 950µg.g⁻¹GAE, respectivamente.

Tabela 3. Antocianinas, fenóis totais e capacidade antioxidante relativa para nove cultivares de mirtilo. Pelotas – RS, safra 2005/06.

a 2005/00.								
Cultivares	Antocianinas Fenóis (mg.100g ⁻¹) (μg.g ⁻¹ GAE)		Fenóis		TEAC-DPPH		TEAC-ABTS	
			(µmols.g ⁻¹ TE)		(µmols.g ⁻¹ TE)			
BlueBelle	15,80	b	721,4	а	7,26	а	7,28	а
Bluegem	28,18	а	635,4	ab	5,27	bcd	4,54	ab
Clímax	12,07	bc	537,1	b	4,50	cd	5,46	ab
Woodard	6,09	bc	708,7	а	4,76	bcd	5,04	ab
Delite	8,71	bc	705,5	а	5,98	ab	4,11	ab
Alice Blue	3,14	С	541,5	b	4,30	d	3,24	ab
Powder Blue	13,62	bc	697,0	а	5,93	abc	5,47	ab
Brite Blue	13,61	bc	644,7	ab	4,81	bcd	4,31	ab
Florida	12,26	bc	553,2	b	4,50	cd	3,64	ab

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

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 Tabela 4. O teor de fenóis totais correlacionou-se significativamente com o capacidade antioxidante, para amora-preta e morango. Resultados semelhantes foram encontrados por CHEEL et al.(2007) em morango e por JIAO & WANG (2000) e REYES-CARMONA et al.(2005) em amora-preta. Por outro lado, não houve correlação significativa entre teor de fenóis totais e capacidade antioxidante para mirtilo. AMAKURA et al.(2000) também encontraram baixa correlação entre capacidade antioxidante e fenóis totais para mirtilo. Antocianinas totais somente

correlacionou-se significativamente com a capacidade antioxidante para amora-preta.

O entendimento da contribuição dos compostos fenólicos para a capacidade antioxidante de diferentes espécies de frutas ainda é muito frágil e incipiente. ARNOUS, MAKRIS KAFALAS (2001) e LEE et al. (2003) sugeriram que a expressão da atividade antioxidante se dá em conseqüência de um sinergismo entre vários compostos fenólicos e não pode ser atribuído especificamente a um constituinte. A precisa relação dessas interações necessita de investigações identifiquem qual grupamento fenólico responsável por exercer poder antioxidante em uma determinada fruta. Trabalhos mais recentes vêm tracando 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).

Tabela 4. Coeficientes de correlação entre capacidade antioxidante relativa (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			

^{*}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.

Na Figura 1 é feito um estudo comparativo entre as cultivares de maior capacidade antioxidante. A cv. de amora-preta Xavante destacou-se com maior teor de antocianinas e capacidade antioxidante, sendo que para o maior teor de fenóis totais houve equivalência entre a cv. Xavante de amora-preta e a cv Diamante de morango. GIL et al. (2002) determinaram em suco de Romã cerca de 20 μ moles/g TE, sendo inclusive superior ao vinho tinto, com cerca de 7 μ moles/g TE, que é considerado um valor de referência para

capacidade antioxidante.

Por outro lado, a cv BlueBelle de mirtilo foram inferiores para capacidade antioxidante, fenóis totais e antocianinas. Esse observações, aliadas ao observado na Tabela 4, 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).

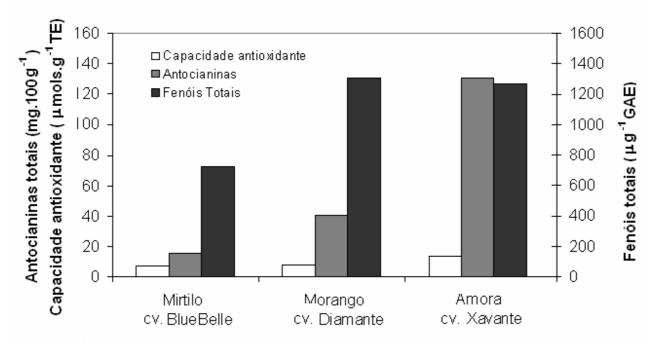


Figura 1 - Comparação entre cultivares de mirtilo, morango e amora-preta que tiveram melhor capacidade antioxidante com relação a antocianinas e fenóis totais.

Correlação entre os métodos DPPH e ABTS

A Figura 2 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.

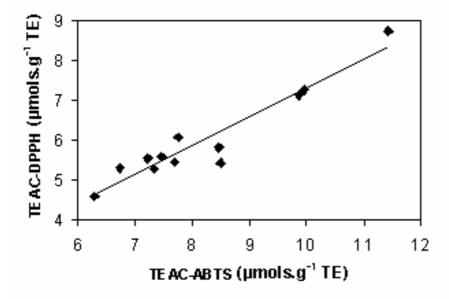


Figura 2. Correlação entre os métodos TEAC-ABTS e TEAC-DPPH para morango.

CONCLUSÃO

Para todas as frutas estudadas ocorreu grande variabilidade nos teores de antocianinas e fenóis totais, assim como capacidade antioxidante, destacando-se positivamente as cultivares Diamante para morango, Xavante para amora-preta e Blue Belle para mirtilo, sendo que a capacidade antioxidante da cv. Xavante foi superior às demais e comparável com vinho tinto e suco de romã, que são referências para alta capacidade antioxidante. Houve alta correlação entre a capacidade antioxidante e fenóis totais para morango e amora-preta, e apenas a amora-preta apresentou correlação antocianinas capacidade entre е antioxidante.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

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.

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, n. 12, p.5736-5742, 2001.

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.

BRAND-WILLIAMS,W.; CUVELIER,M.E.; BERSET,C. Use of a free radical method toevaluate antioxidant activity. **Lebensmittel-Wissenschaft und Technologie**, v. 28, n.1, p.25-30,1995.

BROWN, L.; RIMM, E. B.; SEDDON, J. M.; GIOVANNUCCI, E. L.; Lisa CHASAN-TABER, L.; SPIEGELMAN, D.; WILLETT, W. C.; HANKINSON, S. E. A prospective study of carotenoid intake and risk of cataract extraction in US men. **American Journal of Clinical Nutrition**, v. 70, p. 517-524, 1999.

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. *ananassa* cv. Chandler. **Food Chemistry**, v. 102, p.36-44,2007.

CHENG, G. W.; CRISOSTO, C. H. Browning potential, phenolic composition, and polyphenoloxidase activity of buffer extracts of peach and nectarine skin tissue. **Journal of the American Society of Horticultural Science**, v. 120, n. 5, p. 835-838, 1995.

- 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.
- 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.
- GIL, M. I.; Tomas-Barberan, 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, n.10, p. 4581-4589, 2000.
- 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, n.17, p.4976-4982, 2002.
- 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.
- HERTOG, M. G. L.; SWEETNAM, P. M.; FEHILY, A. M.; ELWOOD, P. C.; KROMHOUT, D. Antioxidant flavonols and ischaemic heart disease in a Welsh population of men. The Caerphilly study. **American Journal of Clinical Nutrition**, v. 65, p.1489-1494, 1997.
- 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.
- 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.
- KHACHIK, F.; CARVALHO, L.; BERNSTEIN, P. S.; MUIR, G. J.; ZHAO, D-Y.; KATZ, N. B. Chemistry, distribution, and metabolism of tomato carotenoids and their impact on human health. **Experimental Biology and Medicine**, v. 227, p. 845-851, 2002
- 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.

- LEES, D.H.; FRANCIS, F.J. Standardization of pigment analyses in cranberries. **Hortscience**, v.7, n.1, p.83-84, 1972.
- LEONG, L.P.;SHUI, G. An investigation of antioxidant capacity of fruits in Singapoure markets. **Food Chemistry**, v.76, p.69-75, 2002.
- MANGIAPANE, H.; THOMSON, J.; SALTER, A.; BROWN, S.; BELL, G. D.; WHITE, D. A. The inhibition of the oxidation of low density lipoprotein by (+)-catechin, a naturally, occurring flavonoid. **Biochemistry Pharmacol**, v. 43, p 445-450, 1992.
- MAZZA,G.; KAY,C.D.; COTTRELL,T.; HOLUB,B.J. Absorption of anthocyanins from blueberries and serum antioxidant status in human subjects. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 50, n.26, p.7731-7737, 2002.
- 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 Agricultural and Food Chemistry**, v. 37, n. 5, p. 1210-1214, 1989.
- 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.
- 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.
- 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.
- NIJVELDT, R. J.; NOOD, E.; HOORN, D. E.C.; BOELENS, P. G.; NORREN, K.; LEEUWEN, P. A. M. Flavonoids: a review of probable mechanisms of action and potential applications. **American Journal of Clinical Nutrition**, v. 74, p. 418-425, 2001.
- OZGEN, M.; REESE, R.N.; TULIO Jr., A.Z.; SCHEERENS, J.C.; MILLER, A.R. Modified 2,2-azinobis-3-ethylbonzothiazoline-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-(DPPH) picrylhydrazyl methods. Journal οf Agricultural Food Chemistry, v.54, p.1151-1157, 2006.

- PAIVA, S. A. R.; RUSSELL, R. M. β -Carotene and other carotenoids as antioxidants. **Journal of the American College of Nutrition**, v. 18, n. 5, p 426-433, 1999.
- 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.
- 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.
- 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.
- 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.
- 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.
- 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.
- SINGLETON, V.L.; ROSSI, J.A. Colorimetry of total phenolics with phosphomolybidic-phosphotungstic acid reagents. **American Journal of Enologie and Viticulture**. V. 16, p.144-158.1965.
- 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/. >
- SLATTERY, M. L.; BENSON, J.; CURTIN, K.; MA, K-N; SCAEFFER, D. POTTER, J. Carotenoids and colon cancer. **American Journal of Clinical Nutrition**, v. 71, p. 575-582, 2000.
- TOMAS-BARBERAN, F. A.; GIL, M. I.; 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, n.10, p. 4748-4760, 2001.
- 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.
- 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.
- WU, X.; PRIOR, R. Systematic indentification and characterization of anthocyanins by HPLC-ESI-MS/MS in common foods in the United States: fruits and Berries. **Journal of Agricultural Food Chemistry**, v. 53, p. 2589-2599, 2005.