



CAROLINE ROBERTA FREITAS PIRES

**QUALIDADE PÓS-COLHEITA DE FRUTOS E
DO FERMENTADO ALCOÓLICO DE AMORA-
PRETA**

LAVRAS – MG

2012

CAROLINE ROBERTA FREITAS PIRES

**QUALIDADE PÓS-COLHEITA DE FRUTOS E DO
FERMENTADO ALCOÓLICO DE AMORA-PRETA**

Tese apresentada à Universidade Federal de Lavras, como parte das exigências do Programa de Pós-Graduação em Ciência dos Alimentos, para a obtenção do título de Doutor.

Orientador

Dr. Luiz Carlos de Oliveira Lima

LAVRAS – MG

2012

**Ficha Catalográfica Preparada pela Divisão de Processos Técnicos da
Biblioteca Central da UFLA**

Pires, Caroline Roberta Freitas.

Qualidade pós-colheita de frutos e do fermentado alcoólico de amora preta / Caroline Roberta Freitas Pires. – Lavras : UFLA, 2012.

187 p. : il.

Tese (doutorado) – Universidade Federal de Lavras, 2011.

Orientador: Luiz Carlos de Oliveira Lima.

Bibliografia.

1. Rubus spp. 2. Refrigeração. 3. Atmosfera modificada. 4. Bebida fermentada. 5. Voláteis. I. Universidade Federal de Lavras.
II. Título.

CDD – 664.804713

CAROLINE ROBERTA FREITAS PIRES

**QUALIDADE PÓS-COLHEITA DE FRUTOS E DO
FERMENTADO ALCOÓLICO DE AMORA-PRETA**

Tese apresentada à Universidade Federal de Lavras,
como parte das exigências do Programa de Pós-
Graduação em Ciência dos Alimentos, para a obtenção
do título de “Doutor”.

APROVADA em 1º de dezembro de 2011

Profa. Dra. Patrícia de Fátima Pereira Goulart - UNILAVRAS

Prof. Dr. José Guilherme Lembi Ferreira Alves – UFLA

Pesquisador Dr. Marcelo Ribeiro Malta – EPAMIG

Pesquisador Dr. Angelo Alberico Alvarenga - EPAMIG

Prof. Dr. Luiz Carlos de Oliveira Lima
UFLA
(Orientador)

**LAVRAS
MINAS GERAIS-BRASIL
2012**

*Aos meus queridos pais,
Conceição e Olavo,*

DEDICO!

AGRADECIMENTOS

A Deus, pela vida e pelas alegrias de cada dia.

Aos meus pais, Conceição e Olavo, por acreditar em mim e permitir que eu fosse tão longe, realizando meus sonhos.

Ao meu tio André, pelo exemplo de superação e por estar sempre ao meu lado, torcendo pelas minhas conquistas.

À minha tia Kelly e minha prima Estéfany, que vibraram em cada vitória e sempre me incentivaram a seguir adiante.

Ao José Ricardo, pelo apoio, carinho e dedicação, durante todo o percurso desta jornada.

A minha amiga Juliana, que esteve presente nesta caminhada, sempre me apoiando e ajudando em todas as etapas.

Ao professor Luiz Carlos, pelo apoio, pela orientação e por permitir que mais um passo pudesse ser dado na minha carreira acadêmica.

À amiga Heloísa Helena, pela amizade e pelo auxílio na execução do trabalho.

Ao professor Eduardo Valério de Barros Vilas Boas, pelo exemplo de profissionalismo e apoio durante toda a minha caminhada na UFLA.

Ao professor Mário Guerreiro, por permitir que as análises cromatográficas fossem realizadas.

Aos pesquisadores Ângelo Alberico e Marcelo Malta por suas contribuições no trabalho.

Ao professor José Guilherme e professora Patrícia Goulart pelas preciosas sugestões e pelo incentivo.

À Capes, pela concessão da bolsa de estudos.

À Universidade Federal de Lavras, pela acolhida e por disponibilizar a sua infraestrutura na realização deste trabalho

Às amigas de república, Ana Clara, Nara, Rosália e Thalita, pela ajuda, pela compreensão e por todos os momentos vividos. Sem vocês esta jornada teria sido mais difícil. Valeu pelo apoio.

Aos queridos agregados da República Bananinha: Danilo, Java, Marcos e Lucas, pelo convívio e pelas alegrias.

Aos queridos colegas do Laboratório de Pós-Colheita de Frutos e Hortaliças: Camila Fante, Ritinha, Manu, Juliana Alvarenga, Ándrea, Isabela, Edson, Paulo, Susana, Marisa, Flávia, Dani, Kelly, Mariana, Luizinho e Nélio, pelos momentos de convivência e alegrias compartilhadas.

Aos amigos do Laboratório de Produtos Vegetais, que me acolheram e se dedicaram em me auxiliar.

Ao José Roberto, que gentilmente se prontificou em nos ceder os vinhos para que a pesquisa fosse realizada.

E a todos aqueles que, de alguma forma, contribuíram para execução do trabalho.

RESUMO GERAL

A amora tem despertado grande atenção do mercado mundial atual, o que tem sido atribuído, principalmente, à presença de compostos bioativos, tais como os compostos fenólicos, que atuam como potentes antioxidantes. No entanto, observa-se que este fruto apresenta uma vida pós-colheita restrita, devido, principalmente, à sua fragilidade e à acentuada perda de massa após a colheita. Diversas alternativas vêm sendo estabelecidas, visando reduzir as perdas destes frutos. Dentre estas, destacam-se o emprego de baixas temperaturas e o acondicionamento em atmosfera modificada. Alternativamente a estas técnicas utiliza-se o processamento dos frutos. Neste contexto, o presente trabalho foi realizado com o objetivo de avaliar as características físico-químicas, químicas e bioquímicas de amora-preta cultivar Tupy, acondicionada em diferentes atmosferas de armazenamento e em diferentes temperaturas e, ainda, comparar as características cromáticas e funcionais do fermentado alcóolico de amora com os tradicionais vinhos produzidos no sul de Minas Gerais. Mediante análises, pôde-se constatar que a embalagem de polietileno com tampa do mesmo polímero foi a mais eficiente em manter as características de qualidade dos frutos, tendo a temperatura de armazenamento recomendada sido de 0 °C, por 12 dias. O fermentado alcóolico de amora é uma alternativa utilizada no processamento dos frutos *in natura*, tendo apresentado resultados interessantes quanto ao teor de compostos fenólicos totais e percentual de sequestro de radical livre.

Palavras-chave: *Rubus* spp. Refrigeração. Atmosfera modificada. Bebida Fermentada. Voláteis.

ABSTRACT

The blackberry has attracted great attention in the current world market. This has been mainly attributed to the presence of bioactive compounds such as phenolic compounds which act as potent antioxidants. However, it is observed that this fruit has a limited life after harvest mainly due to their fragility and severe weight loss after harvest. Several alternatives are being established to reduce the losses of these fruits. Among these stands out the use of low temperature and modified atmosphere packaging. Alternatively to these techniques is used to process the fruit. In this context the present study aims to evaluate the chemical and physical characteristics, chemical and biochemical Tupy blackberries grow stored in different atmospheres and storage at different temperatures and also compare the features and functional chromatic brew with traditional cranberry wines produced in the South of Minas Gerais. Upon analysis, it was found that the polyethylene packaging with cover of the same polymer was the most efficient in maintaining the quality of the fruit, and the recommended storage temperature was 0 ° C for 12 days. The blackberry wine is a alternative used in the processing of fruit "*in natura*", and this presented interesting results regarding the content of total phenolic compounds and sequestration percentage of free radical.

Keywords : *Rubus* spp. Refrigeration. Modified atmosphere. Fermented. Volatile.

LISTA DE FIGURAS

CAPÍTULO 1 CONSIDERAÇÕES SOBRE A AMORA-PRETA, MÉTODOS DE CONSERVAÇÃO E ELABORAÇÃO DE BEBIDA FERMENTADA

Figura 1	Aspecto visual de amora preta cv. “Tupy” acondicionadas em diferentes embalagens.....	50
----------	---	----

CAPÍTULO 5 CARACTERIZAÇÃO CROMÁTICA, FUNCIONAL, VOLÁTIL E SENSORIAL DE BEBIDA FERMENTADA DE AMORA

Figura 1	Aspecto visual dos vinhos rosé seco e suave, amora seco e suave e vinho tinto seco e suave.....	153
Figura 2	Histograma de frequência dos valores atribuídos à aparência (A), sabor (B) e aroma (C) em vinhos secos.....	173
Figura 3	Histograma de frequência dos valores atribuídos à impressão global	174
Figura 4	Histograma de frequência dos valores atribuídos à intenção de compra em vinhos secos.....	175
Figura 5	Histogramas de frequência dos valores atribuídos a aparência em vinhos suaves.....	176
Figura 6	Histogramas de frequência dos valores atribuídos a sabor (A) e aroma (B) em vinhos suaves.....	177
Figura 7	Histogramas de frequência dos valores atribuídos a impressão global e intenção de compra em vinhos suaves...	178

LISTA DE GRÁFICOS

CAPÍTULO 2 CONSERVAÇÃO DE AMORAS PRETAS ARMAZENADAS SOB ATMOSFERA MODIFICADA

Gráfico 1	Equação de regressão e coeficiente de determinação do valor L^* de amoras-pretas acondicionadas em diferentes embalagens: PP, PS revestida com filme PVC 20 μm e PET armazenadas sob refrigeração a $0^{\circ}\text{C}\pm 1^{\circ}\text{C}$ e $90\% \pm 5\%$ de umidade relativa.....	58
Gráfico 2	Equação de regressão e coeficiente de determinação do valor a^* de amoras-pretas armazenadas em diferentes embalagens: PP, PS revestida com filme PVC 20 μm e PET armazenadas sob refrigeração a $0^{\circ}\text{C}\pm 1^{\circ}\text{C}$ e $90\% \pm 5\%$ de umidade relativa.....	59
Gráfico 3	Equação de regressão e coeficiente de determinação Dos valores de perda de massa fresca de amoras-pretas armazenadas em diferentes embalagens: PP, PS revestida com filme PVC 20 μm e PET armazenadas sob refrigeração a $0^{\circ}\text{C}\pm 1^{\circ}\text{C}$ e $90\% \pm 5\%$ de umidade relativa..	60
Gráfico 4	Equação de regressão e coeficiente de determinação da variável pH de amoras-pretas acondicionadas em diferentes embalagens: PP, PS revestida com filme PVC 20 μm e PET armazenadas sob refrigeração a $0^{\circ}\text{C}\pm 1^{\circ}\text{C}$ e $90\% \pm 5\%$ de umidade relativa.....	61
Gráfico 5	Equação de regressão e coeficiente de determinação da variável acidez titulável de amoras-pretas acondicionadas em diferentes embalagens: PP, PS revestida com filme PVC 20 μm e PET armazenadas sob refrigeração a $0^{\circ}\text{C}\pm 1^{\circ}\text{C}$ e $90\% \pm 5\%$ de umidade relativa.....	63
Gráfico 6	Equação de regressão e coeficiente de determinação da variável açúcares totais de amoras-pretas acondicionadas em diferentes embalagens: PP, PS revestida com filme PVC 20 μm e PET armazenadas sob refrigeração a $0^{\circ}\text{C}\pm 1^{\circ}\text{C}$ e $90\% \pm 5\%$ de umidade relativa.....	64

Gráfico 7	Equação de regressão e coeficiente de determinação da variável firmeza de amoras-pretas acondicionadas em diferentes embalagens: PP, PS revestida com filme PVC 20 μm e PET armazenadas sob refrigeração a $0^{\circ}\text{C}\pm 1^{\circ}\text{C}$ e $90\% \pm 5\%$ de umidade relativa.....	65
Gráfico 8	Equação de regressão e coeficiente de determinação da variável pectina solúvel (8A) e porcentagem de solubilização (8B) de amoras-pretas acondicionadas em diferentes embalagens: PP, PS revestida com filme PVC 20 μm e PET armazenadas sob refrigeração a $0^{\circ}\text{C}\pm 1^{\circ}\text{C}$ e $90\% \pm 5\%$ de umidade relativa.....	66
Gráfico 9	Equação de regressão e coeficiente de determinação da variável pectinametilesterase de amoras-pretas acondicionadas em diferentes embalagens: PP, PS revestida com filme PVC 20 μm e PET armazenadas sob refrigeração a $0^{\circ}\text{C}\pm 1^{\circ}\text{C}$ e $90\% \pm 5\%$ de umidade relativa..	68
Gráfico 10	Equação de regressão e coeficiente de determinação da variável poligalacturonase de amoras-pretas acondicionadas em diferentes embalagens: PP, PS revestida com filme PVC 20 μm e PET armazenadas sob refrigeração a $0^{\circ}\text{C}\pm 1^{\circ}\text{C}$ e $90\% \pm 5\%$ de umidade relativa..	69
Gráfico 11	Equação de regressão e coeficiente de determinação da variável vitamina C de amoras-pretas acondicionadas em diferentes embalagens: PP, PS revestida com filme PVC 20 μm e PET armazenadas sob refrigeração a $0^{\circ}\text{C}\pm 1^{\circ}\text{C}$ e $90\% \pm 5\%$ de umidade relativa.....	70
Gráfico 12	Equação de regressão e coeficiente de determinação da variável antocianinas totais de amoras-pretas acondicionadas em diferentes embalagens: PP, PS revestida com filme PVC 20 μm e PET armazenadas sob refrigeração a $0^{\circ}\text{C}\pm 1^{\circ}\text{C}$ e $90\% \pm 5\%$ de umidade relativa..	72
Gráfico 13	Equação de regressão e coeficiente de determinação da variável compostos fenólicos totais de amoras-pretas acondicionadas em diferentes embalagens: PP, PS revestida com filme PVC 20 μm e PET armazenadas sob refrigeração a $0^{\circ}\text{C}\pm 1^{\circ}\text{C}$ e $90\% \pm 5\%$ de umidade relativa..	73

Gráfico 14	Equação de regressão e coeficiente de determinação da variável porcentagem de seqüestro radical livre de amoras-pretas acondicionadas em diferentes embalagens: PP, PS revestida com filme PVC 20 µm e PET armazenadas sob refrigeração a 0°C±1°C e 90% ± 5% de umidade relativa.....	74
------------	---	----

CAPÍTULO 3 EFEITO DE DIFERENTES TEMPERATURAS NA QUALIDADE PÓS COLHEITA DE AMORA PRETA

Gráfico 1	Equação de regressão e coeficiente de determinação de perda de massa de amoras-pretas armazenadas em diferentes temperaturas de refrigeração.....	94
Gráfico 2	Equação de regressão e coeficiente de determinação de acidez titulável de amoras-pretas armazenadas em diferentes temperaturas de refrigeração.....	96
Gráfico 3	Equação de regressão e coeficiente de determinação de sólidos solúveis de amoras-pretas armazenadas em diferentes temperaturas de refrigeração.....	97
Gráfico 4	Equação de regressão e coeficiente de determinação de firmeza (A) e porcentagem de solubilização (B) de amoras-pretas armazenadas em diferentes temperaturas de refrigeração.....	99
Gráfico 5	Equação de regressão e coeficiente de determinação de pectinametilesterase (5A) e poligalacturonase (5B) de amoras-pretas armazenadas em diferentes temperaturas de refrigeração.....	101
Gráfico 6	Equação de regressão e coeficiente de determinação de peroxidase de amoras-pretas armazenadas em diferentes temperaturas de refrigeração.....	103
Gráfico 7	Equação de regressão e coeficiente de determinação de polifenoloxidase de amoras-pretas armazenadas em diferentes temperaturas de refrigeração.....	104

Gráfico 8	Equação de regressão e coeficiente de determinação de fenilalanina amônia-liase de amoras-pretas armazenadas em diferentes temperaturas de refrigeração.....	105
Gráfico 9	Equação de regressão e coeficiente de determinação de fenólicos totais de amoras-pretas armazenadas em diferentes temperaturas de refrigeração.....	106
Gráfico 10	Equação de regressão e coeficiente de determinação de antocianinas totais de amoras-pretas armazenadas em diferentes temperaturas de refrigeração.....	108
Gráfico 11	Equação de regressão e coeficiente de determinação de vitamina C de amoras-pretas armazenadas em diferentes temperaturas de refrigeração.....	109
Gráfico 12	Equação de regressão e coeficiente de determinação de porcentagem de seqüestro de radical livre de amoras-pretas armazenadas em diferentes temperaturas de refrigeração.....	110

CAPÍTULO 4 PERFIL VOLÁTIL DE AMORA PRETA DURANTE O ARMAZENAMENTO

Gráfico 1	Análise de componente principais (PCA)	132
-----------	--	-----

CAPÍTULO 5 CARACTERIZAÇÃO CROMÁTICA, FUNCIONAL, VOLÁTIL E SENSORIAL DE BEBIDA FERMENTADA DE AMORA

Gráfico 1	Análise de Componentes principais (PCA) TP= Taninos Proantociânicos; AT= Antocianinas Totais; FT= Fenólicos Totais; PP= Pigmentos Polimerizados.....	161
Gráfico 2	Análise de Componentes Principais para aminas biogênicas avaliadas em vinhos tinto de uva cv. Bordô, fermentado alcoólico de amora e vinho rosé cv. Niágara.....	165
Gráfico 3	Análise de Componentes Principais para compostos voláteis encontrados nos vinhos.....	170

LISTA DE TABELAS

CAPÍTULO 3 EFEITO DE DIFERENTES TEMPERATURAS NA QUALIDADE PÓS-COLHEITA DE AMORA-PRETA

Tabela 1	Teor médio da variável pH de amora-preta armazenados em diferentes temperaturas (0°C, 5°C e 8°C).....	96
----------	---	----

CAPÍTULO 4 PERFIL VOLÁTIL DE AMORA-PRETA DURANTE O ARMAZENAMENTO

Tabela 1	Compostos voláteis, tempo de retenção e porcentagem de áreas relativas de componentes aromáticos de amora preta cv. “Tupy” armazenadas a $0 \pm 1^\circ\text{C}$, por 12 dias.....	127
----------	---	-----

CAPÍTULO 5 CARACTERIZAÇÃO CROMÁTICA, FUNCIONAL, VOLÁTIL E SENSORIAL DE BEBIDA FERMENTADA DE AMORA

Tabela 1	Teores médios de pH e sólidos solúveis totais (°BRIX) dos vinhos.....	150
Tabela 2	Parâmetros de cor (L^* , a^* , b^*), intensidade de cor, índice de cor e tonalidade, identificados nos vinhos produzidos nos Sul de Minas Gerais.....	152
Tabela 3	Teores médios de antocianinas totais (mg.L^{-1}), Taninos Proantociânicos (g.L^{-1}), Pigmentos Polimerizados (%), Fenólicos Totais (mg EAG.100ml^{-1}), % Seqüestro de radical livre (% SRL).....	155
Tabela 4	Teores médios de amins biogênicas ($\mu\text{g.mL}$) em vinhos tintos, rosé e de amora produzidos no Sul de Minas Gerais..	163
Tabela 5	Perfil volátil de vinhos produzidos no Sul de Minas Gerais.....	167
Tabela 6	Valores das médias dos atributos sensoriais para o vinho Seco.....	172
Tabela 7	Valores das médias dos atributos sensoriais para o vinho Suave.....	172

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO.....	19
2	REFERENCIAL TEÓRICO.....	21
2.1	Cultivar Tupy.....	22
2.2	Compostos bioativos.....	23
2.3	Qualidade pós colheita.....	27
2.4	Conservação pós colheita.....	28
2.4.1	Refrigeração.....	28
2.4.2	Atmosfera Modificada.....	28
2.5	Perfil Volátil.....	30
2.6	Fermentado Alcoólico de frutas.....	32
2.7	Avaliação da qualidade enológica.....	35
3.0	REFERÊNCIAS.....	37
	CAPÍTULO 2 Conservação de amoras-pretas armazenadas sob atmosfera modificada.....	45
1	INTRODUÇÃO.....	48
2	MATERIAL E MÉTODOS.....	50
2.1	Análises.....	51
2.1.1	Coloração	51
2.1.2	Perda de massa fresca (%).....	51
2.1.3	Sólidos solúveis.....	52
2.1.4	Açúcares solúveis totais.....	52
2.1.5	Acidez titulável e pH.....	52
2.1.6	Firmeza	52
2.1.7	Pectina solúvel e porcentagem de solubilização.....	53
2.1.8	Pectinametilesterase (PME).....	53
2.1.9	Poligalacturonase (PG).....	53
2.1.10	Vitamina C.....	54
2.1.11	Antocianinas Totais.....	54
2.1.12	Compostos Fenólicos totais.....	55
2.1.13	Atividade Antioxidante total DPPH.....	56
2.1.14	Análises estatísticas.....	56
2.2	Delineamento experimental.....	57
3	RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	58
3.1	Análise instrumental da cor.....	58
3.2	Perda de Massa	59
3.3	pH, sólidos solúveis, acidez titulável e açúcares totais.....	61
3.4	Avaliação Textural	64
3.5	Compostos Bioativos nas amoras.....	70
4	CONCLUSÕES.....	77

	REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	78
	CAPÍTULO 3 Efeito de diferentes temperaturas de refrigeração na qualidade pós colheita de amora preta.....	82
1	INTRODUÇÃO.....	85
2	MATERIAL E MÉTODOS.....	87
2.1	Obenção dos frutos e condução do experimento.....	87
2.2	Análises.....	87
2.2.1	Perda de massa fresca (%)......	87
2.2.2	Sólidos solúveis.....	88
2.2.3	Acidez titulável e pH.....	88
2.2.4	Firmeza	88
2.2.5	Porcentagem de solubilização.....	88
2.2.6	Pectinametilesterase (PME)	89
2.2.7	Poligalacturonase (PG)	89
2.2.8	Peroxidase (POD).....	90
2.2.9	Polifenoloxidase (PFO).....	90
2.2.10	Fenilalanina amônia-liase (PAL)	90
2.2.11	Vitamina C.....	91
2.2.12	Antocianinas totais (AT)	91
2.2.13	Compostos Fenólicos totais.....	92
2.2.14	Atividade Antioxidante total DPPH.....	92
2.2.15	Análises estatísticas.....	93
2.3	Delineamento experimental.....	93
3	RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	94
3.1	Perda de Massa.....	94
3.2	Sólidos solúveis, acidez titulável, pH.....	95
3.3	Qualidade Textural.....	98
3.4	Perfil enzimático do metabolismo fenilpropanóide.....	102
3.5	Compostos Bioativos.....	106
4	CONCLUSÕES.....	112
	REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	113
	CAPÍTULO 4 Perfil volátil de amora preta armazenadas sob refrigeração.....	118
1	INTRODUÇÃO.....	121
2	MATERIAL E MÉTODOS.....	123
2.1	Obenção dos frutos, montagem e condução do experimento.....	123
2.2	Compostos voláteis.....	123
2.3	Análises estatísticas.....	125
3	RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	126
4	CONCLUSÃO.....	134
	REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	135

	CAPÍTULO 5 Caracterização cromática, funcional, volátil e sensorial de bebida fermentada de amora	137
1	INTRODUÇÃO.....	140
2	MATERIAL E MÉTODOS	142
2.1	Matéria-prima.....	142
2.2	Análises realizadas.....	142
2.2.1	pH.....	142
2.2.2	Sólidos solúveis totais (SST)	143
2.2.3	Análise instrumental de cor.....	143
2.2.3.1	Índice de Cor, intensidade corante, tonalidade.....	143
2.2.4	Antocianinas totais (AT)	144
2.2.5	Pigmentos Polimerizados.....	144
2.2.6	Taninos Proantociânicos.....	145
2.2.7	Fenólicos Totais.....	145
2.2.8	Atividade Antioxidante total DPPH.....	146
2.2.9	Aminas bioativas.....	147
2.2.10	Perfil Volátil.....	147
2.2.10.1	Extração dos Compostos Voláteis.....	147
2.2.10.2	Identificação dos Voláteis.....	148
2.2.11	Análise Sensorial.....	148
2.3	Análise Quimiométrica.....	149
3	RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	150
3.1	pH e sólidos solúveis.....	150
3.2	Análise instrumental da cor.....	151
3.3	Antocianinas totais, Taninos proantociânicos, Pigmentos polimerizados, % SRL, Fenólicos totais.....	155
3.4	Aminas Biogênicas.....	162
3.5	Perfil volátil.....	166
3.6	Análise sensorial.....	171
4	CONCLUSÕES.....	179
	REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	180

CAPÍTULO 1

CONSIDERAÇÕES SOBRE A AMORA-PRETA, MÉTODOS DE CONSERVAÇÃO E ELABORAÇÃO DE FERMENTADO ALCÓOLICO

1 INTRODUÇÃO GERAL

No cenário mundial atual tem-se observado a busca acentuada por produtos que satisfaçam às necessidades nutricionais básicas ou que exerçam efeitos fisiológicos benéficos à saúde do consumidor. A amora-preta tem se inserido nesta expectativa de mercado, visto que, além de seu sabor agradável, seus frutos são fonte de importantes vitaminas, minerais e outros compostos bioativos na dieta humana.

As atividades biológicas da amora-preta são parcialmente atribuídas ao seu elevado teor de fitoquímicos, tais como flavonoides, taninos, estilbenoides e ácidos fenólicos (SEERAM, 2006). Estes compostos apresentam expressiva capacidade sequestrante de radicais livres, devido, principalmente, às suas propriedades de oxido-redução, por meio da doação de elétrons, neutralizando os radicais livres (SEVERO et al., 2009).

A amora-preta apresenta vida útil curta, principalmente pela sua alta atividade respiratória e também pela acentuada perda de massa, o que limita o consumo deste fruto no mercado das frutas frescas. No entanto, diversas alternativas vêm sendo lançadas como ferramenta para se conseguir um aumento desta vida de prateleira.

A utilização de baixas temperaturas constitui um dos fatores mais importantes na redução da deterioração e na maximização da vida útil da amora-preta. O armazenamento a frio retarda os processos fisiológicos, como a respiração e a produção de calor vital, que levam à senescência das frutas. A redução da intensidade respiratória reduz as perdas de aroma, sabor, cor, textura e outros atributos de qualidade do produto armazenado (FILGUEIRAS; CHITARRA; CHITARRA, 1996).

Outra prática eficiente para a redução de perdas pós-colheita, associada à refrigeração consiste no armazenamento sob atmosfera modificada (AM). A

utilização de atmosfera modificada, pelo emprego de filmes flexíveis estabelece uma composição gasosa, no interior da embalagem, diferente da do ar, e, pela respiração do vegetal, ocorre redução da concentração de O₂ e elevação do CO₂, fato que pode reduzir a atividade metabólica do produto (KADER, 1986), aumentando sua vida útil.

Além do consumo *in natura*, os frutos da amora-preta podem ser destinados ao processamento para a produção de doces, geleas e sucos.

Outra alternativa que vem sendo recentemente explorada incide na produção do fermentado alcoólico de amora. Esta bebida vem sendo produzida por pequenos produtores do Sul de Minas, como forma de aproveitamento do excesso dos frutos produzidos.

Neste contexto, este trabalho foi realizado com o objetivo de avaliar as tecnologias de conservação pós-colheita de amora-preta e comparar o fermentado alcoólico de amora-preta com vinhos tradicionais produzido no sul de Minas Gerais.

2 REFERENCIAL TEÓRICO

A amora-preta (*Rubus* sp.) tem despertado a atenção dos produtores e do mercado consumidor mundial, devido ao baixo custo de implantação e de manutenção do pomar e, principalmente, reduzida utilização de agrotóxicos. Além disso, é uma cultura de retorno rápido, o que dá ao pequeno produtor opções de renda, destinando seu produto ao mercado *in natura* ou para o processamento (ANTUNES, 2002).

A amoreira-preta pertence à família *Rosaceae*, gênero *Rubus*, subgênero *Eubatus*, constituindo um grupo variado e complexo de plantas. É uma espécie arbustiva de porte ereto ou rasteiro. Sua origem não é muito definida (Europa, América do Norte e América do Sul), apresentando características de adaptação climática muito variada. Os aspectos fenológicos da amoreira-preta podem variar de ano para ano, em função da exigência em frio ter sido ou não satisfeita. Além de aspectos climáticos, fatores inerentes à espécie e/ou à variedade podem afetar o comportamento da planta (ANTUNES; GONÇALVES; TREVISAN, 2006).

Os frutos da amoreira-preta pesam de 4 a 7 g, têm coloração negra e sabor que vai do ácido ao doce-ácido. O fruto verdadeiro da amoreira é denominado minidrupa ou drupete, no qual existe uma pequena semente, e a sua junção forma o que é chamado de fruto agregado (JEPSON; CRAIG, 2005).

A colheita da amora-preta deve ser realizada quando os frutos atingirem o estágio de maturação “preto-brilhante”, porém, com minidrupas não expandidas (ANTONIOLLI; DALLAGNOL, 2008). Quando a colheita é realizada em estádios anteriores a este, resulta em frutos imaturos e com pouca aceitabilidade pelo mercado consumidor, ao passo que a colheita nos estádios de maturação mais avançados implica na maior fragilidade dos frutos e menor conservação pós-colheita (COUTINHO; MACHADO; CANTILLANO, 2008).

A amoreira-preta proporciona frutas com valor econômico significativo e alta qualidade nutricional, sendo fonte de importantes vitaminas, minerais e outros compostos bioativos na dieta humana (ANTUNES, 2002).

2.1 Cultivar Tupy

A amoreira-preta passou a ser pesquisada a partir de 1972, pela Embrapa Clima Temperado, tendo a primeira coleção sido implantada em 1974, no município de Canguçu, RS (EMPRESA BRASILEIRA DE PESQUISA AGROPECUÁRIA - EMBRAPA, 1989).

O programa de melhoramento genético iniciou-se com o plantio de sementes produzidas por mais de cinquenta cruzamentos efetuados na Universidade de Arkansas, que deram origem às primeiras cultivares brasileiras, que foram: ‘Ébano’, em 1981 (BASSOLS; MOORE, 1981); ‘Negrita’, em 1983 (RASEIRA; SANTOS; RASEIRA, 1992); ‘Tupy’ e ‘Guarani’, em 1988 (SANTOS; RASEIRA, 1988) e ‘Caingangue’, em 1992 (RASEIRA; SANTOS; RASEIRA, 1992).

A cultivar Tupy foi obtida do cruzamento entre as cultivares Uruguai e Comanche. É, atualmente, a cultivar de amoreira-preta mais plantada no Brasil, além de ocupar posição de destaque no México, onde é produzida, principalmente, para exportação aos Estados Unidos (CHIM; 2008). A colheita dessas frutas ocorre entre meados de novembro a início de janeiro.

Produz frutas grandes, com semente pequena, conteúdo médio de sólidos solúveis variando entre 8 e 9 °Brix, coloração preta e uniforme, sabor equilibrado em acidez e açúcar, coloração preta e uniforme, e consistência firme com película resistente (RASEIRA; SANTOS; BARBIERI, 2004).

2.2 Compostos bioativos

A amora-preta apresenta diversos constituintes que lhe conferem o atributo de fruta funcional, visto que, quando consumida como parte usual da dieta, exerce, além das características nutricionais básicas, a produção de efeito fisiológico/metabólico ou efeito benéfico à saúde humana (VIZZOTO, 2008).

Em diversos trabalhos ressalta-se que extratos de amora-preta têm apresentado efeito anticarcinogênico (DING et al., 2006; LAZZE et al., 2004; SEERAM et al., 2006) e antimutagênico (TATE et al., 2006).

Estas atividades biológicas da amora-preta são parcialmente atribuídas ao seu elevado teor de fitoquímicos, como os ácidos fenólicos (ácido hidroxibenzoico e hidroxicinâmicos), os flavonoides (antocianinas, flavonóis, e flavanóis), estilbenoides (como o resveratrol), taninos (proantocianidinas, elagitaninos e galotaninos) e lignanas (SEERAM, 2006).

Estes compostos atuam como antioxidantes, devido às suas propriedades de óxido-redução, as quais podem desempenhar um papel importante na absorção e na neutralização de radicais livres (DEGÁSPARI; WASZCZYNSKYJ, 2004). Sua capacidade antioxidante é relacionada, também, à presença de grupos hidroxila (OH^-) em sua estrutura química, os quais têm a capacidade de se ligar a radicais livres presentes no organismo, impedindo sua ação, que pode causar danos e/ou oxidação de componentes celulares (SEVERO et al., 2009).

A concentração dos compostos fenólicos totais presentes na amora-preta varia seu conteúdo em função de diversos fatores, tais como tipo de cultivar, do ponto de maturação na colheita, dos procedimentos da colheita, das condições ambientais e climáticas na colheita, da posição geográfica, da exposição à luz solar, das condições de estocagem pós-colheita e do tipo de processamento a que é submetido o fruto. Além disso, outro fator que contribui grandemente como

fonte de variação consiste na diferença de metodologias empregadas na extração da amostra para a determinação dos fenóis totais. O conteúdo de fenólicos totais em amora-preta varia entre 261,95 a 929,62 mg, equivalente de ácido gálico.100g⁻¹de fruta fresca (EMBRAPA, 2008) até 1.938,70 mg ácido gálico.100g⁻¹fruta (JACQUES, 2009).

Destacam-se entre os compostos fenólicos presentes na amora-preta os pigmentos naturais antocianinas. São pigmentos solúveis em água que conferem as várias nuances, entre laranja, vermelho e azul, exibidas pelas frutas, hortaliças, folhas, flores e raízes.

O teor de antocianinas na amora-preta varia de acordo com o estágio de maturação das frutas. De acordo com Siriwoharn e Wrolstad (2004), o conteúdo de antocianinas aumenta de 74,7 mg equivalente de cianidina-3-glicosídeo/100 g peso fresco, em frutos ainda verdes para 317 mg cianidina-3-glicosídeo /100 g peso fresco, em frutos sobremaduros.

Chim (2008) encontraram teores de antocianinas totais na amora-preta cultivar Tupy na faixa de 137,59 mg cianidina-3-glicosídeo.100g⁻¹ fruta, valores muito similares aos relatados por Jacques (2009), de 140,73 mg cianidina-3-glicosídeo.100g⁻¹fruta.

Outro fator que influencia o conteúdo de antocianinas consiste nas diferentes cultivares, variando de 12,70 a 197,34 mg.100g⁻¹fruta (SELLAPPAN; AKOH; KREWER, 2002).

Dentre as antocianinas identificadas em amora-preta, incluem-se cianidina-dioxaloil-glicosídeo, peonidina-3-glicosídeo (SEERAM et al., 2006), malvidina-acetilglicosídeo (REYES-CARMONA et al., 2005), cianidina-3-arabinosídeo, cianidina-3-galactosídeo, malvidina-3-glicosídeo, pelargonidina-3-glicosídeo, cianidina-3-xilosídeo, cianidina-3-rutinosídeo, cianidina-malonoil-glicosídeo (FAN-CHIANG; WROLSTAD, 2005) e cianidina-3-glicosídeo,

contribuindo, quantitativamente, com 80% do total das antocianinas (SERRAINO et al., 2003).

Wang e Lin (2000) afirmaram que a atividade antirradical livre presente em amoras-pretas está altamente associada ao elevado teor de antocianinas.

Ao avaliar a relação entre capacidade antioxidante com o teor de antocianinas presentes em amora-preta cv. Apache, submetidas ao processamento térmico, Hager; Howard e Prior (2008) observaram que o branqueamento e a pasteurização do suco não afetaram a capacidade antioxidante, pois o aumento de antocianinas poliméricas compensou o decréscimo de antocianinas monoméricas, após o processamento.

Ding et al. (2006) relataram que as antocianinas extraídas de amora-preta foram capazes de reduzir o número e o tamanho de tumores malignos e não malignos, os quais foram induzidos quimicamente na pele de camundongos. Além disso, estes compostos inibiram a migração e a invasão do câncer.

Dentre os compostos fenólicos da classe não flavonoide encontrados na amora-preta, destacam-se: ácido gálico, ácido hidroxibenzoico, ácido cafeico, ácido cumárico, ácido ferúlico, ácido elágico (SELLAPPAN; AKOH; KREWER, 2002), quercetina e kampferol (JACQUES, 2009).

O ácido elágico é derivado do ácido gálico, com funções antimutagênica e anticancerígena, sendo um potente inibidor da indução química do câncer (MAAS; GALLETTA. STONER, 1991).

Jacques (2009) relatou que o ácido gálico é o ácido fenólico predominante na amora-preta cultivar Tupy, compreendendo 64% do total dos ácidos fenólicos identificados. Este resultado corrobora os reportados por Chim (2008), que também encontrou o ácido gálico como sendo o ácido fenólico predominante com cerca de 60% dos ácidos fenólicos identificados.

Outros compostos bioativos, como os carotenoides, estão presentes em frutos de amora-preta, porém, em quantidades menos expressivas (MARINOVA; RIBAROVA, 2007).

O elevado conteúdo de antocianinas totais na amora-preta faz com que a coloração amarelada característica da presença de carotenos não seja representativa, como em outras frutas. De acordo com Araújo et al. (2007), o teor de carotenoides totais em amora-preta ($0,877 \text{ mg } \beta\text{-caroteno} \cdot 100\text{g}^{-1}$ de fruta) foi superior ao encontrado na acerola ($0,53 \text{ mg de } \beta\text{-caroteno} \cdot 100\text{g}^{-1}$ de fruta).

Diversos carotenoides foram relatados na amora-preta. Dentre eles destacam-se β -caroteno ($0,003 \text{ mg} \cdot 100\text{g}^{-1}$ de fruta), licopeno ($0,015 \text{ mg} \cdot 100\text{g}^{-1}$ de fruta), β -criptoxantina ($0,227 \text{ mg} \cdot 100\text{g}^{-1}$ de fruta) e luteína+zeaxantina ($0,519 \text{ mg} \cdot 100\text{g}^{-1}$ de fruta) (JACQUES, 2009).

A vitamina C também tem grande destaque como antioxidante natural presente nas frutas. Jacques (2009) encontrou, em amora-preta, teor $0,9$ ($\text{mg ácido ascórbico} \cdot 100\text{g}^{-1}$) e Chim (2008) relatou teores de $2,4$ ($\text{mg ácido ascórbico} \cdot 100\text{g}^{-1}$ fruta), na amora-preta cv. Tupy.

Além da vitamina C, a vitamina E também contribui com a atividade sequestrante de radical livre dos frutos. Jacques (2009), ao avaliar o conteúdo de tocoferóis na amora-preta cultivar Tupy ($0,87 \text{ mg} \cdot 100\text{g}^{-1}$), encontrou similaridade com o conteúdo de outras frutas, como na nectarina ($0,73 \text{ mg tocoferol} \cdot 100\text{g}^{-1}$ fruta) e no mirtilo ($1,05 \text{ mg tocoferol} \cdot 100\text{g}^{-1}$ fruta) (CHUN et al., 2006).

No entanto, no trabalho realizado por Chim (2008), com as cultivares de amora-preta Guarani e Brazos, observaram-se quantidades de tocoferóis inferiores ($0,468 \text{ mg tocoferol} \cdot 100\text{g}^{-1}$ fruta e $0,537 \text{ mg tocoferol} \cdot 100\text{g}^{-1}$ fruta, respectivamente) às do trabalho desenvolvido por Jacques (2009), com frutos da cultivar Tupy.

2.3 Qualidade pós-colheita

A amora-preta apresenta rápida perda de qualidade pós-colheita, o que limita a sua comercialização no mercado de frutas frescas. Devido à sua fragilidade e à alta taxa respiratória, a amora-preta tem vida útil curta, podendo ser facilmente ferida durante o manuseio, facilitando o processo de infecção por patógenos (PERKINS-VEAZIE et al., 1997).

A textura dos frutos sofre modificações, sendo o amolecimento dos tecidos a alteração mais marcante durante o amadurecimento e a conservação pós-colheita. O amolecimento de um fruto pode resultar de dois processos, sendo o primeiro relatado como uma redução da pressão de turgor das células, decorrente de baixa umidade relativa do ar durante o armazenamento, propiciando a perda excessiva de água e o segundo, em decorrência das alterações na lamela média e na parede celular, principalmente devido à ação de enzimas sobre as substâncias pécticas (KLUGE et al., 1997).

As paredes celulares são formadas por pectina, que corresponde a uma cadeia de ácido poligalacturônico com grau variável de esterificação, celulose, hemicelulose e pelo cálcio. A combinação da pectina com o cálcio forma a protopectina, que é insolúvel em água. Esta mantém forte coesão entre as células durante o crescimento do fruto, resultando no elevado grau de firmeza antes da maturação. No transcorrer da maturação, após o fruto atingir o tamanho máximo, o cálcio é desprendido da protopectina pela ação de uma protopectinase, iniciando a solubilização da pectina (CHITARRA; CHITARRA, 2005).

Além das protopectinases, outras duas enzimas atuam na modificação da textura: a pectinametilsterase (PME) e a poligalacturonase (PG). A PME promove a desesterificação ou a remoção dos grupos metílicos da cadeia de ácido poligalacturônico, enquanto a PG atua na despolimerização e na solubilização dos polímeros pécticos (KLUGE et al., 1997).

2.4 Conservação pós-colheita

2.4.1 Refrigeração

A utilização de baixas temperaturas constitui o fator mais importante na redução da deterioração e na maximização da vida útil da amora-preta. O armazenamento a frio retarda os processos fisiológicos como a respiração e a produção de calor vital, que levam à senescência das frutas. A redução da intensidade respiratória reduz as perdas de aroma, sabor, cor, textura e outros atributos de qualidade do produto armazenado (FILGUEIRAS; CHITARRA; CHITARRA, 1996).

A temperatura de armazenamento recomendada para os frutos da amoreira é de 0°C (HARDENBURG; WATADA; WANG, 1986). No entanto, quando armazenados a 2°C, frutos das cultivares Navaho, Choctaw, Cheyenne e Shawnee se mantiveram comercializáveis pelo período de sete dias (PERKINS-VEAZIE; COLLINS; CLARK, 1996).

A vida útil das amoras das cultivares Guarani e Caingangue foi restrita a somente um dia, quando armazenadas à temperatura ambiente, devido à excessiva perda de massa e à elevada incidência de podridões (CIA et al., 2007).

2.4.2 Atmosfera modificada

Embora a refrigeração represente uma prática eficiente para a redução de perdas pós-colheita, o armazenamento sob atmosfera modificada (AM) pode acarretar benefícios adicionais, quando utilizado adequadamente (ANTUNES; DUARTE FILHO; SOUZA, 2003).

Nos últimos cinquenta anos, tem-se observado uma ascensão na utilização da atmosfera modificada, contribuindo significativamente para

estender a vida pós-colheita e manter a qualidade de várias frutas e hortaliças (KADER, 2002).

As atmosferas modificadas podem ser criadas de forma ativa ou passiva pelo produto. A atmosfera passiva é alcançada no interior da embalagem selada, pela utilização do O₂ e produção de CO₂, oriundos da respiração do produto e da permeabilidade do filme, até que seja atingida a atmosfera de equilíbrio. Na atmosfera de equilíbrio, a quantidade de CO₂ produzida pelo produto no interior da embalagem é compensada pela sua permeação para o exterior e o consumo de O₂ é compensado pela permeação desse gás para o interior da mesma. É importante que essa atmosfera se estabilize ligeiramente, evitando criar condições de anaerobiose ou injúrias pelo alto nível de CO₂ (MORETTI, 2007).

Na obtenção de atmosfera modificada, são utilizados filmes de polietileno de baixa densidade com diferentes espessuras ou filmes de cloreto de polivinila (PVC), mais delgados e mais permeáveis do que os de polietileno, sendo, em alguns casos, mais eficientes para prolongar a vida útil das frutas (CHITARRA; CHITARRA, 2005).

A quantidade do produto, a taxa de respiração do produto e as concentrações de equilíbrio de O₂ e CO₂ desejáveis são fatores que devem ser ressaltados na seleção do filme plástico para se criar a atmosfera modificada (CANTWELL; SUSLOW, 2002).

O armazenamento sob refrigeração, associado à utilização de atmosfera modificada (AM), implica em benefícios adicionais, tais como redução no crescimento de microrganismos e retardo nas mudanças químicas e fisiológicas (SANTOS et al., 2005).

Amoras-pretas das cultivares Guarani e Caingangue, acondicionadas em bandejas de poliestireno e envoltas em filme de polietileno linear de baixa densidade (PEBD), apresentaram redução na perda de massa sem alteração no teor de sólidos solúveis, acidez titulável e pH, evidenciando a eficiência da

utilização da atmosfera modificada para a conservação pós-colheita dos frutos (CIA et al., 2007). A utilização de AM pode reduzir a taxa respiratória e o amolecimento dos frutos (MITCHAM; CRISOSTO; KADER, 2007).

No armazenamento de amoras das cultivares Brazos e Comanche Antunes et al. (2003), observaram que eles puderam ser armazenados a 2 °C, por até nove dias, sem perda de qualidade, quando acondicionados em bandejas de polietileno teraftalato transparente, envoltos em filme PVC (20 µm).

2.5 Perfil volátil

A qualidade das frutas é determinada por vários parâmetros, dentre os quais se destacam a firmeza, a aparência, o *flavor*, o valor nutritivo e a segurança (CHITARRA; CHITARRA, 2005). O *flavor* é determinado pelo estímulo da sensibilidade química do consumidor ao aroma e ao sabor. A sensação do aroma envolve centenas e milhares de substâncias voláteis (RIU-AUMATEL et al., 2004).

Os compostos voláteis podem ser derivados de aminoácidos, ácidos graxos, carboidratos e carotenoides. Constituem um grupo heterogêneo de compostos com cadeia linear, ramificada, aromática e heteroaromática, apresentando grupos químicos diferentes, como hidroxila, carbonila, carboxila, éster, lactona, amina e funções tiol (PINHO et al., 2009).

Os voláteis apresentam um considerável impacto econômico, como parâmetro de qualidade dos alimentos e de preferência do consumidor. A função dos voláteis nas frutas como um sinal de maturação e como um atrativo para os organismos dispersores das sementes é apoiada pelo fato de algumas substâncias serem especificamente formadas em frutos maduros, estando ausentes nos tecidos vegetativos e em frutos imaturos (GOFF; KLEE, 2006).

Embora uma única fruta, ou vegetal, sintetize centenas de compostos voláteis, apenas um pequeno subconjunto gera a impressão digital do *flavor*, permitindo a escolha dos alimentos pelos indivíduos.

Dentre as características que os voláteis devem apresentar para produzir esta impressão sensorial destacam-se: certo grau de lipofilicidade e pressão de vapor suficientemente alta para que possa ser transportado no sistema olfativo; solubilidade em água para permear a fina camada de muco e ocorrer em concentração alta para ser capaz de interagir com um ou mais dos receptores olfativos (DUDAREVA; PICHERSK; GERSHENZON, 2004).

A concentração dos compostos voláteis geralmente é baixa e pode ser afetada por uma série de fatores, incluindo os agronômicos (variedade, condições climáticas e amadurecimento) (VENDRAMINI; TRUGO, 2000) e tecnológicos (colheita, tratamento pós-colheita, armazenamento e condições de processamento) (BOTONDI et al., 2003).

A determinação qualitativa e quantitativa dos compostos voláteis permite monitorar a qualidade de frutos frescos ou processados, além de possibilitar o desenvolvimento de novas formulações de aroma (ONG et al., 2008).

Dentre as técnicas de determinação, a microextração em fase sólida (SPME) é uma alternativa de extração que não induz modificações dos compostos voláteis, devido ao efeito da temperatura ou do solvente. Esse tipo de extração envolve a adsorção de analitos em uma fibra de sílica revestida com uma fase estacionária e sua posterior dessorção térmica, permitindo a injeção direta do analito na coluna do cromatógrafo gasoso (PAWLISZYN, 2000). A espectrometria de massa associada à cromatografia gasosa é uma técnica valiosa para a análise dos compostos voláteis, visto que propicia rapidez e praticidade na análise da constituição química autêntica do aroma da fruta e tem sido

amplamente utilizada em vegetais (FERNANDES et al., 2009; GUEDES DE PINHO et al, 2009).

O conhecimento dos compostos responsáveis pelo sabor e aroma dos frutos justifica-se pela importância na sua qualidade e na de seus produtos. Além disso, aportam peculiaridades de aroma de um alimento, característica bem intensa e marcante nos frutos.

2.6 Fermentado alcoólico de frutas

Qualquer fruto ou vegetal comestível que contenha umidade suficiente, açúcar e outros nutrientes para as leveduras pode servir como matéria-prima para a produção de bebidas alcoólicas (CORAZZA; RODRIGUES; NOKAZI, 2001).

De acordo com o Decreto nº 2.314, de 4 de setembro de 1997, que aprova os regulamentos técnicos para a fixação dos padrões de identidade e qualidade para fermentado de fruta. Bebida fermentada de fruta é aquela com graduação alcoólica de 4% a 14%, em volume a 20 °C, obtida a partir da fermentação alcoólica do mosto de fruta sã, fresca e madura. Esse fermentado pode ser adicionado de açúcares, água e outras substâncias previstas em ato administrativo complementar, para cada tipo de fruta (BRASIL, 2008).

A amora-preta é um fruto altamente perecível apresentando curta vida pós-colheita (MORRIS et al., 1981). Com isso, há uma grande limitação quanto ao mercado de frutos *in natura*, sendo necessário seu destino em outras aplicações, tais como sorvetes, sucos e geleias (PERKINS-VEAZIE; COLLINS; CLARK, 1999), sendo uma alternativa a fabricação de bebida fermentada.

A fermentação alcoólica é um processo anaeróbico, catalisado por enzimas, no qual ocorre a transformação de açúcares em etanol e dióxido de carbono (CO₂). Os açúcares são consumidos pela levedura com o objetivo de

produzir energia para ser usada na realização das suas atividades fisiológicas, no seu crescimento e na sua reprodução (GLAZER; NIKAIDO, 2007).

A fermentação pode ser conduzida com várias leveduras. No entanto, o papel principal é desempenhado pela *Saccharomyces cerevisiae*, pela alta produção e tolerância a elevadas concentrações de etanol (BARRE et al., 2000).

As fermentações espontâneas são aquelas produzidas de maneira natural, ou seja, realizadas pelas leveduras provenientes das uvas ou outras frutas, sem nenhum tipo de inoculação. Isso faz com que as fermentações espontâneas não sejam produtos de uma única espécie de levedura, mas, sim, de uma sucessão ou diversidade de espécies de leveduras diferentes ao longo do processo (TORIJA et al., 2001).

A primeira etapa no processo de vinificação consiste no esmagamento do fruto, com o objetivo de liberar o suco, de forma que as sementes e os engaços não sejam esmagados. Segundo Catalunã (1988), o processo de esmagamento tem como vantagem permitir que a maceração durante a fermentação seja mais eficiente, possibilitando a obtenção de vinho mais tinto.

A segunda etapa consiste na sulfitação. O uso do anidrido sulfuroso (SO_2) como agente antimicrobiano possibilitou melhoria significativa do vinho, devido ao seu efeito inibitório no crescimento de leveduras e bactérias indesejáveis na fermentação (ROMANO; SUZZI, 1993).

A terceira etapa do processo fermentativo é denominada de chaptalização e consiste na adição de açúcar ao suco de uva (HASHIZUME; 2001).

A quarta etapa consiste na colagem, processo que promove a remoção de partículas que provocam a turbidez do fermentado por meio da utilização de substâncias, tais como bentonite, gelatina, caseína, caseinato de potássio, albumina de ovo e proteína vegetais (COSME; SILVA; LAUREANO, 2008).

A quinta etapa do processo fermentativo é denominada de trasfega, quando o vinho é transferido de um recipiente para outro, de forma a eliminar a borra depositada (MENEGUZZO; MANFROI; RIZZON, 2006).

A sexta etapa consiste na filtração, ao qual o material particulado fica retido em um meio filtrante e a bebida, límpida, é recuperada, sem que haja perda da qualidade organoléptica (PELEG et al., 1979). Hashizume (2001) cita vários tipos de filtros, como os de terra de diatomáceas e os de placa de celulose.

A sétima etapa é denominada de atesto, quando os recipientes vinários são completamente preenchidos, visando evitar o contato do vinho com o ar (ROSIER, 1995).

No decorrer da fermentação, as leveduras, quando fermentam os açúcares, produzem outros metabólitos além de etanol e CO₂, embora em baixa quantidade, como alcoóis superiores, acetatos, aldeídos, glicerol e ésteres, que são responsáveis pelo aroma, podendo influenciar as propriedades organolépticas das bebidas alcoólicas produzidas (WARD, 1991).

O etanol é o componente principal, sendo essencial para reforçar as características sensoriais dos outros componentes dos vinhos. No entanto, o seu excesso pode interferir na percepção global do aroma e do sabor. O metanol é produzido pela hidrólise da pectina metilada, presente em algumas matérias-primas, pela enzima pectinametilsterase (ZOELEIN et al., 2001).

O glicerol, produto da fermentação alcoólica, confere sabor adocicado, semelhante ao da glicose, contribuindo para a maciez do vinho. O teor de glicerol no fermentado alcoólico pode variar de acordo com a espécie da levedura, a temperatura da fermentação e a sulfitação (HASHIZUME, 2001).

O acetaldeído é originário do metabolismo de leveduras durante a fermentação alcoólica. Quando em excesso, confere cor verde e aroma de maçã. É responsável pelo desenvolvimento da cor nos vinhos tintos (OSBORNE et al., 2000).

Os aldeídos são formados pela descarboxilação de oxo-ácidos ou pela oxidação dos respectivos alcoóis; apresentam odor penetrante, que afeta o aroma das bebidas alcoólicas (MAIA, 1994).

Os ácidos orgânicos exercem grande influência nas propriedades organolépticas, como sabor, aroma, cor e também estão relacionados ao controle da estabilidade microbiológica das bebidas (MATO et al., 2005).

Durante a fermentação alcoólica também são produzidos os alcoóis superiores, os quais, quando produzidos em excesso resultam em aroma forte e sabor picante. No entanto, quando em concentrações baixas, proporcionam características desejáveis às bebidas (SWIEGERS et al., 2005).

Os éteres etílicos são importantes compostos de aroma, sendo que, os mais importantes são os de cadeia curta e apresentam aroma frutado (ARAÚJO, 2004).

Os ésteres são os compostos produzidos por leveduras que têm a maior influência sobre o aroma das bebidas (ABBAS, 2006).

Alguns compostos, tais como os compostos sulfurados, podem ser formados durante a fermentação, pelas leveduras. Geralmente, estão associados ao aroma desagradável, prejudicando a qualidade do vinho. No entanto, alguns podem contribuir de forma positiva, conferindo aroma de maracujá e morango (SWIEGERS et al., 2005).

2.7 Avaliação da qualidade enológica

Para avaliar a qualidade global de um vinho, a análise sensorial no meio enológico é o método mais completo e recomendado. As análises químicas, mesmo descritivas dos constituintes, são insuficientes para tal caracterização (PEREIRA et al., 2008).

Dos métodos sensoriais utilizados para medir a aceitação e a preferência

dos consumidores, a escala hedônica estruturada de nove pontos é, provavelmente, o método afetivo mais utilizado, devido à simplicidade de execução pelos provadores, à confiabilidade e à validade de seus resultados (STONE; SIDEL, 1993).

Além da avaliação sensorial, em diversos trabalhos tem-se lançado mão da quimiometria. Esta é uma ciência de natureza multidisciplinar, envolvendo modelagem matemática, estatística multivariada e informática, sendo especialmente aplicada a dados bioquímicos e químicos. Suas principais divisões incluem a extração do máximo de informações a partir de dados analíticos e otimização das medições químicas (KRUZLICOVA et al., 2009).

Os métodos quimiométricos têm sido muito utilizados na ciência e na tecnologia de vinhos, visando garantir a autenticidade do produto e solucionar problemas relacionados à produção e à caracterização química/sensorial. Entre esses métodos destacam-se a análise por componentes principais (ACP) e a análise hierárquica de agrupamentos (AHA), que são métodos exploratórios de dados experimentais (BRERETON, 2007).

Os métodos quimiométricos caracterizam os vinhos em relação à sua composição química (SON et al., 2009) e à avaliação dos principais compostos aromáticos do vinho (LI et al., 2008).

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ABBAS, C. A. Production of antioxidants, aromas, colours, flavours, and vitamins by yeast. In: QUEROL, A.; FLEET, H. (Ed.). **Yeast in food and beverage**. Berlin: Springer-Verlag, 2006. p. 285-334.
- ANTONIOLLI, L. R.; DALLAGNOL, A. Atributos de qualidade relacionados ao estágio de maturação de amoras-pretas. **Jornal da Fruta**, Lages, n. 194, p. 10-11, 2008.
- ANTUNES, L. E. C. Amora-preta: nova opção de cultivo no Brasil. **Ciência Rural**, Santa Maria, v. 32, n. 1, p. 151-158, jan./fev. 2002.
- ANTUNES, L. E. C.; DUARTE FILHO, J.; SOUZA, C. M. Conservação pós-colheita de frutos de amoreira-preta. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v. 38, n. 3, p. 413-419, mar. 2003.
- ANTUNES, L. E. C.; GONÇALVES, D. E.; TREVISAN, R. Alterações da atividade da poligalacturonase e pectinametilesterase em amora-preta (*Rubus* spp.) durante o armazenamento. **Revista Brasileira de Agrociência**, Pelotas, v. 12, n. 1, p. 63-66, jan./mar. 2006.
- ARAÚJO, I. M. M. **Características aromáticas e cromáticas das castas Amaral e Vinhão**. 2004. 194 p. Dissertação (Mestrado em Viticultura e Enologia) - Universidade do Porto, Porto, 2004.
- ARAÚJO, P. G. L. et al. β -caroteno, ácido ascórbico e antocianinas totais em polpa de frutos de aceroleira conservada por congelamento durante 12 meses. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, Campinas, v. 27, n. 1, p. 104-107, jan./fev. 2007.
- BARRE, P. et al. La levadura de fermentación alcohólica. In: FLANZY, C. (Ed.). **Enología: fundamentos científicos e tecnológicos**. Madrid: Mundi, 2000. p. 274-315.
- BASSOLS, M. do C. M.; MOORE, J. N. 'Ébano' thornless blackberry. **HortScience**, Alexandria, v. 16, n. 5, p. 686-687, 1981.

BOTONDI, R. et al. Influence of ethylene inhibition by 1-methylcyclopropene on apricot quality, volatile production, and glycosidase activity of low- and high-aroma varieties of apricots. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, Easton, v. 51, n. 5, p. 1189-1200, Feb. 2003.

BRASIL. Instrução Normativa, oriunda da Portaria nº 64, de 23 de abril de 2008. Aprova os regulamentos técnicos para a fixação dos padrões de identidade e qualidade para fermentado de fruta (anexo I), sidra (anexo II), hidromel (anexo III), fermentado de cana (anexo IV), fermentado de fruta licoroso (anexo V), fermentado de fruta composto (anexo VI) e saquê (anexo VII). **Diário Oficial [da] República Federativa do Brasil**, Brasília, 24 abr. 2008. Seção 1, p. 9.

BRERETON, R. G. **Applied chemometrics for scientists**. Cichester: J. Wiley, 2007. 379 p.

CANTWELL, M. I.; SUSLOW, T. V. Postharvest handling systems: fresh-cut fruits and vegetables. In: KADER, A. A. (Ed.). **Postharvest technology of horticultural crops**. 3rd ed. Davis: CRC, 2002. p. 445-463.

CATALUNÃ, E. **As uvas e os vinhos**. 2. ed. Rio de Janeiro: Globo, 1988. 207 p.

CHIM, J. F. **Caracterização de compostos bioativos em amora-preta (*Rubus sp.*) e sua estabilidade no processo e armazenamento de geléias convencional e light**. 2008. 86 f. Tese (Doutorado em Ciência e Tecnologia Agroindustrial) - Universidade Federal de Pelotas, Pelotas, 2008.

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

CHUN, J. et al. Tocopherol and tocotrienol contents of raw and processed fruits and vegetables in the United States diet. **Journal of Food Composition and Analysis**, Orlando, v. 19, n. 2/3, p. 196-204, June 2006.

CIA, P. et al. Atmosfera modificada e refrigeração para conservação pós-colheita de amora-preta. **Bioscience Journal**, Uberlândia, v. 23, n. 3, p. 11-16, 2007.

CORAZZA, M. L.; RODRIGUES, D. G.; NOZAKI, J. Preparação e caracterização do vinho de laranja. **Química Nova**, São Paulo, v. 24, n. 4, p. 449-452, jul./ago. 2001.

COSME, F.; SILVA, J. M. R.; LAUREANO, O. Interactions between protein binding agents and proanthocyanidins. **Food Chemistry**, London, v. 106, n. 2, p. 536-544, Feb. 2008.

COUTINHO, E. F.; MACHADO, N. P.; CANTILLANO, R. F. F. **Sistema de produção da amoreira-preta**. Pelotas: EMBRAPA Clima Temperado, 2008. Disponível em: <<http://sistemasdeproducao.cnptia.embrapa.br/FontesHTML/Amora/SistemaProducaoAmoreiraPreta/manejo.htm>>. Acesso em: 10 nov. 2011.

DEGÁSPARI, C. H.; WASZCZYNSKYJ, N. Propriedades antioxidantes de compostos fenólicos. **Visão Acadêmica**, Curitiba, v. 5, p. 33-40, 2004.

DING, M. et al. Cyanidin-3-glucoside, a natural product derived from blackberry, exhibits chemopreventive and chemotherapeutic activity. **Journal of Biological Chemistry**, Maryland, v. 281, n. 25, p. 17359-17368, Dec. 2006.

DUDAREVA, N.; PICHERSK, E.; GERSHENZON, J. Biochemistry of plant volatiles. **Plant Physiology**, Bethesda, v. 135, n. 4, p. 1893-1902, Aug. 2004.

EMPRESA BRASILEIRA DE PESQUISA AGROPECUÁRIA. **Cultura da amora-preta**. Pelotas, 1989. 2 p. (Sistema Simplificado de Produção, 3).

_____. **Sistema de produção da amoreira preta**. Pelotas, 2008. Disponível em: <<http://www.embrapa.br>>. Acesso em: 10 nov. 2011.

FAN-CHIANG, H. J.; WROLSTAD, R. Anthocyanin pigment composition of blackberries. **Journal of Food Science**, Chicago, v. 70, n. 3, p. 198-202, Mar. 2005.

FERNANDES, F. et al. Volatile constituents throughout *Brassica oleracea* L. var. acephala germination. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, Easton, v. 57, n. 15, p. 6795-6802, Aug. 2009.

FILGUEIRAS, H. A. C.; CHITARRA, M. I. F.; CHITARRA, A. B. Armazenamento de ameixas sob refrigeração e atmosfera modificada: 2., colapso interno (internal breakdown) e textura. **Revista Brasileira de Fruticultura**, Cruz das Almas, v. 18, n. 1, p. 129-135, jan./fev. 1996.

GLAZER, A. N.; NIKAIIDO, H. **Microbial biotechnology**. 2nd ed. New York: Cambridge University, 2007. 554 p.

GOFF, S. A.; KLEE, H. J. Plant volatile compounds: sensory cues for health and nutritional value? **Science**, New York, v. 311, n. 5762, p. 815-819, Feb. 2006.

HAGER, T.; HOWARD, L. R.; PRIOR, R. L. Processing and storage effects on monomeric anthocyanins, percent polymeric color, and antioxidant capacity of processed blackberry products. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, Easton, v. 56, n. 3, p. 689-695, Jan. 2008.

HARDENBURG, R. E.; WATADA, A. E.; WANG, C. Y. **The commercial storage of fruits, vegetables, and florist and nursery stocks**. Davis: USDA, 1986. 130 p. (Handbook, 66).

HASHIZUME, T. Tecnologia do vinho. In: AQUARONE, E. et al. (Ed.). **Biotecnologia industrial: biotecnologia na produção de alimentos**. São Paulo: E. Blucher, 2001. p. 21-68.

JACQUES, A. C. **Estabilidade de compostos bioativos em polpa congelada de amora-preta (rubus fruticosus) cv.tupy**. 2009. 60 p. Dissertação (Mestrado em Ciência e Tecnologia Agroindustrial) - Universidade Federal de Pelotas, Pelotas, 2009.

JEPSON, R. G.; CRAIG, J. C. **The American heritage science dictionary**. Chicago: Houghton Mifflin, 2005. 704 p.

KADER, A. A. Biochemical and physiology basis for effects of controlled and modified atmospheres on fruits and vegetables. **Food Technology**, Chicago, v. 40, n. 5, p. 99-104, Sept. 1986.

_____. Modified atmosphere during transport and storage. In: _____. **Postharvest technology of horticultural crops**. 3rd ed. Davis: CRC, 2002. p. 135-144.

KLUGE, R. A. et al. **Fisiologia e manejo pós-colheita de frutas de clima temperado**. Pelotas: UFPEL, 1997. 163 p.

KRUZLICOVA, D. et al. Classification of Slovak white wines using artificial neural networks and discriminant techniques. **Food Chemistry**, London, v. 112, n. 4, p. 1046-1052, Feb. 2009.

LAZZE, M. C. et al. Anthocyanins induce cell cycle perturbations and apoptosis in different human cell lines. **Carcinogenesis**, Oxford, v. 25, n. 8, p. 1427-1433, Aug. 2004.

LI, H. et al. Impact odourants of Chardonnay dry white wine from Changli County, China. **European of Food Research and Technology**, Berlin, v. 227, n. 2, p. 287-292, Feb. 2008.

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

MAIA, A. B. R. Componentes voláteis da aguardente. **STAB**, Piracicaba, v. 12, n. 6, p. 29-34, 1994.

MARINOVA, D.; RIBAROVA, F. HPLC determination of carotenoids in Bulgarian berries. **Journal of Food Composition and Analysis**, San Diego, v. 20, n. 5, p. 370-374, Aug. 2007.

MENEGUZZO, J.; MANFROI, L.; RIZZON, L. A. **Vinho: sistema de produção**. Pelotas: EMBRAPA, 2006. Disponível em: <<http://www.cnpv.embrapa.br/publica/sprod/vinotinto/index.html>>. Acesso em: 20 nov. 2011.

MITCHAM, E. J.; CRISOSTO, C. H.; KADER, A. A. **Bushberry, blackberry, blueberry, cranberry, raspberry: recommendations for maintaining postharvest quality**. Davis: University of California, 2007. Disponível em: <<http://postharvest.ucdavis.edu/Produce/Producefacts/Fruit/berr y.shtml>>. Acesso em: 11 nov. 2011.

MORETTI, C. L. **Manual de processamento mínimo de frutas e hortaliças**. Brasília: EMBRAPA Hortaliças; SEBRAE, 2007. 531 p.

MORRIS, J. R. et al. Influence of postharvest holding on raw and processed quality of machine harvested blackberries. **Journal of the American Society for Horticultural Science**, Alexandria, v. 106, n. 6, p. 769-775, 1981.

ONG, B. T. et al. Analysis of volatile compounds in five jackfruit (*Artocarpus heterophyllus* L.) cultivars using solid-phase microextraction (SPME) and gas chromatography-time-of-flight mass spectrometry (GC-TOFMS). **Journal of Food Composition and Analysis**, San Diego, v. 21, n. 5, p. 416-422, Apr. 2008.

OSBORNE, J. P. et al. Acetaldehyde metabolism by wine lactic acid bacteria. **FEMS Microbiology Letters**, Amsterdam, v. 191, n. 1, p. 51-55, 2000.

PAWLISZYN, J. Theory of solid phase microextraction. **Journal of Chromatographic Science**, Niles, v. 38, n. 7, p. 270-278, July 2000.

PELEG, Y. et al. Method for evaluating the filterability of wine and similar fluids. **American Journal of Enology and Viticulture**, Davis, v. 30, n. 3, p. 174-178, 1979.

PEREIRA, G. E. et al. Potential evaluation of five American cultivars for grape juices in the South of Minas Gerais State. **Ciência e Agrotecnologia**, Lavras, v. 32, n. 5, p. 1531-1537, set./out. 2008.

PERKINS-VEAZIE, P.; COLLINS, J. K.; CLARK, J. R. Cultivar and maturity affect postharvest quality of fruit from erect blackberries. **HortScience**, Alexandria, v. 31, n. 2, p. 258-261, Apr. 1996.

_____. Cultivars and storage temperature effects on the shelflife of blackberry fruit. **Fruit Varieties Journal**, University Park, v. 53, n. 4, p. 201-208, Dec. 1999.

PERKINS-VEAZIE, P. et al. Air shipment of 'Navaho' blackberry fruit to Europe is feasible. **HortScience**, Alexandria, v. 32, n. 1, p. 132-135, Feb. 1997.

PINHO, P. G. de et al. Volatile composition of *Catharanthus roseus* (L.) G. Don using solid-phase microextraction and gas chromatography/mass spectrometry. **Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis**, Amsterdam, v. 49, n. 3, p. 674-685, Apr. 2009.

RASEIRA, A.; SANTOS, A. M. dos; RASEIRA, M. do C. B. Caingangue, nova cultivar de amoreira-preta para consumo 'in natura'. **HortiSul**, Pelotas, v. 2, n. 3, p. 11-12, 1992.

RASEIRA, M. do C. B.; SANTOS, A. M.; BARBIERI, R. L. Classificação botânica: origem e cultivares. In: ANTUNES, L. C.; RASEIRA, M. do C. B. (Ed.). **Aspectos técnicos da cultura da amora preta**. Pelotas: EMBRAPA-CPACT, 2004. p. 15-28. (EMBRAPA Clima Temperado. Documentos, 122).

RIU-AUMATEL, M. et al. Characterisation of volatile compounds of fruit juices and nectars by HS/SPME and GC/MS. **Food Chemistry**, London, v. 87, n. 4, 627-637, Apr. 2004.

ROMANO, P.; SUZZI, G. Sulfur dioxide and wine microorganisms. In: FLEET, G. H. (Ed.). **Wine microbiology and biotechnology**. London: Harwood Academic, 1993. p. 272-395.

ROSIER, J. P. **Manual de elaboração de vinho para pequenas cantinas**. 2. ed. Florianópolis: EPAGRI, 1995. 72 p.

SANTOS, A. M.; RASEIRA, M. do C. B. **Lançamento de cultivares de amoreira preta**. Pelotas: EMBRAPA-CNPFT, 1988. 12 p.

SANTOS, J. C. B. et al. Avaliação da qualidade do abacaxi 'Pérola' minimamente processado armazenado sob atmosfera modificada. **Ciência e Agrotecnologia**, Lavras, v. 29, n. 2, p. 346-352, mar./abr. 2005.

SANTOS, S. C. et al. Elaboração e análise sensorial do fermentado de acerola (*Malpighia Punicifolia* L.). **Brazilian Journal of Food Technology**, Campinas, n. 10, p. 47-50, Mar. 2005.

SEERAM, N. P. et al. Blackberry, black raspberry, blueberry, cranberry, red raspberry, and strawberry extracts inhibit growth and stimulate apoptosis of human cancer cells in vitro. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, Washington, v. 54, n. 25, p. 9329-9339, Dec. 2006.

SELLAPPAN, S.; AKOH, C. C.; KREWER, G. Phenolic compounds and antioxidant capacity of georgia-grown blueberries and blackberries. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, Washington, v. 50, n. 8, p. 2432-2438, Aug. 2002.

SERRAINO, I. et al. Protective effects of cyanidin-3-O-glucoside from blackberry extract against peroxynitrite-induced endothelial dysfunction and vascular failure. **Life Sciences**, Amsterdam, v. 73, n. 9, p. 1097-1114, July 2003.

SEVERO, J. et al. Avaliação de compostos fenólicos, antocianinas, vitamina C e capacidade antioxidante em mirtilo armazenado em atmosfera controlada. **Brazilian Journal Food Technology**, Pelotas, n. 2, p. 65-70, 2009. Edição especial.

SIRIWOHARN, T.; WROLSTAD, R. E. Polyphenolic composition of marion and evergreen blackberries. **Journal of Food Science**, Davis, v. 69, n. 4, p. 233-240, Apr. 2004.

SON, H. S. et al. Characterization of wines from grape varieties through multivariate statistical analysis of ¹HNMR spectroscopic data. **Food Research International**, Barking, v. 42, n. 10, p. 1483-1491, Oct. 2009.

STONE, H. S.; SIDEL, J. L. **Sensory evaluation practices**. San Diego: Academic, 1993. 308 p.

SWIEGERS, J. H. et al. Yeast and bacterial modulation of wine aroma and flavour. **Australian Journal of Grape and Wine Research**, Sydney, v. 11, n. 2, p. 139-173, Feb. 2005.

TATE, P. et al. Blackberry extracts inhibit UV-induced mutagenesis in *Salmonella typhimurium* TA100. **Nutrition Research**, Amsterdam, v. 26, n. 1, p. 100-104, Jan. 2006.

TORRIJA, M. J. et al. Yeast population in spontaneous fermentations: comparison between two different wine-producing areas over a period of three years. **Antonie van Leeuwenhoek**, Netherlands, v. 79, n. 3/4, p. 345-352, Sept. 2001.

VENDRAMINI, A. L.; TRUGO, L. C. Chemical composition of acerola fruit (*Malpighia puniceifolia* L.) at three stages of maturity. **Food Chemistry**, London, v. 71, n. 2, p. 195-198, Feb. 2000.

VIZZOTO, M. **Amora-preta: uma fruta antioxidante**. Pelotas: EMBRAPA Clima Temperado, 2008. 3 p. Disponível em: <http://www.cpact.embrapa.br/imprensa/artigos/2008/artigoMarcia_amora.pdf>. Acesso em: 10 fev. 2011.

WANG, S. Y.; LIN, H. S. Antioxidant activity in fruits and leaves of blackberry, raspberry, and strawberry varies with cultivar and developmental stage. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, Easton, v. 48, n. 1, p. 140-146, Jan. 2000.

WARD, O. **Biotecnología de la fermentación: principios, procesos y productos**. Zaragoza: Acribia, 1991. 155 p.

ZOECKLEIN, B. W. et al. **Análisis y producción de vino**. Zaragoza: Acribia, 2001. 613 p.

CAPÍTULO 2

CONSERVAÇÃO DE AMORAS-PRETAS ARMAZENADAS SOB ATMOSFERA MODIFICADA

RESUMO

O estudo foi realizado com o objetivo de avaliar as transformações físicas, químicas e bioquímicas de amoras-pretas cultivar Tupy armazenadas em diferentes atmosferas, visando obter respostas na determinação da melhor embalagem utilizada para manter as características de qualidade e prolongar sua vida útil. Para tanto, frutos da cultivar Tupy, provenientes de plantio comercial no município de Itamonte, MG, foram acondicionados em três diferentes embalagens: embalagem de polietileno tereftalato (PET) com tampa rígida encaixável do mesmo polímero; embalagem de poliestireno revestida com filme de policloreto de vinila (PVC) com espessura de 20 μm e embalagem de polipropileno (PP) com tampa rígida encaixável do mesmo polímero. As embalagens contendo os frutos foram distribuídas, aleatoriamente, à temperatura de refrigeração de 0 ± 1 °C e $90\pm 5\%$ de umidade relativa, por 12 dias e as avaliações foram realizadas nos períodos de 0, 3, 5, 7, 9 e 12 dias de armazenamento, das seguintes variáveis: coloração, perda de massa fresca, sólidos solúveis, açúcares solúveis totais, acidez titulável, pH, firmeza, pectina total, pectina solúvel, pectinametilesterase, poligalacturonase, vitamina C, compostos fenólicos totais e atividade antioxidante. O trabalho foi conduzido em delineamento inteiramente casualizado (DIC). Os tratamentos foram dispostos em fatorial duplo 3×6 , contendo três repetições, tendo cada unidade experimental sido constituída por, aproximadamente, 120 g. Os resultados obtidos foram submetidos à análise de variância e as médias foram comparadas, pelo teste de Tukey, a 5% de probabilidade e análise de regressão. Apesar de muitas variáveis apresentarem semelhanças no comportamento das amoras-pretas armazenadas em diferentes embalagens, conclui-se que a embalagem de polipropileno determinou as maiores oscilações ao longo do tempo, principalmente das variáveis relacionadas ao perfil textural, dificultando, assim, a conservação da amora-preta neste tipo de embalagem. Já as embalagens de poliestireno revestidas com filme de policloreto de vinila e polietileno apresentaram comportamento muito semelhante, proporcionando a melhor conservação da amora-preta.

Palavras-chave: *Rubus* spp cv. Tupy. Embalagem. Qualidade. Vida útil.

ABSTRACT

This study aimed to evaluate the physical, chemical and biochemical characteristics of blackberries "Tupy" stored in different atmospheres, to obtain answers in determining the best packaging used to maintain the quality and prolong its shelf life. For this fruit of the cultivar Tupy, from a commercial plantation in the municipality of Itamonte-MG were placed in three different packages: packaging of polyethylene (PET) with cover of the same polymer; poliestiereno packaging film coated with polychloride (PVC) with a thickness of 20 μm and polypropylene (PP) packaging with cover of the same polymer. Packages containing fruits were randomly assigned to the cooling temperature of $0^{\circ}\text{C} \pm 1^{\circ}\text{C}$ and $90\% \pm 5\%$ UR for 12 days and assessments were performed during periods of 0, 3, 5, 7, 9 and 12 days of storage, the following variables: color, weight loss, soluble solids, total soluble sugars, titratable acidity, pH, firmness, total pectin, soluble pectin, polygalacturonase, vitamin C, total phenolics, antioxidant activity. The study was conducted in a completely randomized design (DIC). The treatments were arranged in double factorial 3×6 , with three repetitions, each experimental unit was constituted by about 120g. The results were submitted to ANOVA and means were compared by Tukey test at 5% probability and regression analysis. Although many variables were similarities in the behavior of blackberries stored in different packages, it is concluded that polypropylene packaging determined the highest fluctuations over time, especially of the variables related to the textural profile, thus hindering the conservation of this type blackberry packing. As for the packaging polystyrene and polyethylene showed very similar behavior by providing the best conservation of blackberry.

Keywords: *Rubus* spp. Packaging. Quality. Shelf life.

1 INTRODUÇÃO

A amora-preta é um fruto de clima temperado, pertencente à família das Rosaceae, gênero *Rubus* spp, de crescimento ereto, vigorosa e com presença moderada de espinhos, muito produtiva, de frutos grandes (5 a 7ng), atrativos e firmes, de sabor ácido adstringente (ANTUNES, 2002).

Em Minas Gerais, suas qualidades agronômicas vêm sendo trabalhadas como uma das opções para a pequena propriedade agrícola, visto que apresenta baixo custo de implantação, manutenção do pomar e, principalmente, reduzida utilização de agrotóxicos (ANTUNES, 2002).

No entanto, a rápida perda de qualidade pós-colheita representa um sério obstáculo à comercialização da amora-preta no mercado de frutas frescas. Devido à sua fragilidade e alta taxa respiratória, a amora-preta apresenta vida pós-colheita curta, podendo ser facilmente suscetível a danos mecânicos durante a colheita, transporte e manuseio, facilitando o processo de infecção por patógenos (PERKINS-VEAZIE et al., 1997).

Por se tratar de frutos extremamente perecíveis, são necessários cuidados adicionais quando destinados ao consumo *in natura*, a fim de preservar as características sensoriais e nutricionais do fruto até o seu consumo final. Nesse sentido, é imprescindível que a colheita seja realizada nas primeiras horas da manhã e que os frutos sejam rapidamente retirados do campo. É aconselhado também que seja realizada, neste momento, a seleção do estágio de maturação e o descarte de frutos com defeitos ou podridões (SCHAKER; ANTONIOLLI, 2009).

A utilização de baixas temperaturas constitui o fator mais importante na redução da deterioração e na maximização da vida útil da amora-preta. O armazenamento a frio retarda os processos fisiológicos, como a respiração e a produção de calor vital, que levam à senescência dos frutos. A redução da

intensidade respiratória reduz as perdas de aroma, sabor, cor, textura e outros atributos de qualidade do produto armazenado (FILGUEIRAS; CHITARRA CHITARRA, 1996).

Associado à refrigeração, o armazenamento sob condições de atmosfera modificada (AM) pode, quando utilizado adequadamente, resultar em benefícios adicionais. Na obtenção de atmosferas modificadas, são utilizados filmes de polietileno de baixa densidade com diferentes espessuras ou filmes de cloreto de polivinila (PVC), mais delgados e mais permeáveis do que os de polietileno, sendo, em alguns casos, mais eficientes para prolongar a vida útil das frutas (CHITARRA; CHITARRA, 2005).

A diminuição da taxa respiratória e a consequente redução das reações metabólicas, promovidas pela diminuição nos níveis de O_2 e aumento de CO_2 , atrasam o amadurecimento e a senescência dos frutos, por reduzir a utilização de carboidratos, ácidos orgânicos e outras reservas (MATHOOKO, 1996).

Nesse sentido, conduziu-se este estudo com o objetivo de avaliar as transformações físicas, químicas e bioquímicas de amoras-pretas cultivar Tupy armazenadas em diferentes atmosferas, visando obter respostas na determinação da melhor embalagem para manter as características de qualidade e prolongar sua vida útil.

2 MATERIAL E MÉTODOS

Os frutos utilizados neste experimento eram provenientes de plantio comercial no município de Itamonte, MG. Utilizou-se a cultivar Tupy, sendo sua colheita realizada em novembro de 2010, no período da manhã, para minimizar perdas por transpiração, procedendo-se a colheita manual.

Os frutos foram colhidos, obedecendo à uniformidade de tamanho, cor e ausência de injúrias e armazenados em bandejas de polietileno com tampa do mesmo polímero. Os frutos foram transportados em caminhão refrigerado da cidade de procedência para o Laboratório de Pós-Colheita de Frutas e Hortaliças da Universidade Federal de Lavras (UFLA), onde foram manipulados com o devido cuidado, evitando qualquer injúria ao tecido. Estes frutos foram retirados das embalagens de procedência e acondicionados em três diferentes embalagens para a modificação da atmosfera, sendo elas:

- a) embalagem de polipropileno (PP), com tampa rígida encaixável do mesmo polímero;
- b) embalagem de poliestireno (PS) revestida manualmente com filme de policloreto de vinila (PVC), com espessura de 20 μm ;
- c) embalagem de polietileno tereftalato (PET), com tampa rígida encaixável do mesmo polímero.



Polietileno tereftalato (PET)

Poliestireno (PS)

Polipropileno (PP)

Figura 1- Aspecto visual de amora-preta cv. Tupy acondicionada em diferentes embalagens.

2.1 Análises

As embalagens contendo os frutos foram distribuídas aleatoriamente à temperatura de refrigeração de 0 ± 1 °C e $90\pm 5\%$ de umidade relativa, por 12 dias e as avaliações foram realizadas nos períodos de 0, 3, 5, 7, 9 e 12 dias de armazenamento. Cada parcela experimental foi constituída por 120 g.

2.1.1 Coloração

A coloração foi determinada em três pontos distintos do fruto, utilizando-se o colorímetro Minolta CR-400, com a determinação no modo CIE $L^* a^* b^*$. A coordenada L^* representa quão clara ou escura é a amostra, com valores variando de 0 (totalmente preta) a 100 (totalmente branca). Já a coordenada a^* pode assumir valores de -80 a +100, em que os extremos correspondem ao verde e ao vermelho, respectivamente. Por fim, a coordenada b^* , com a intensidade de azul ao amarelo, pode variar de -50 (totalmente azul) a +70 (totalmente amarelo).

2.1.2 Perda de massa fresca (%)

Foi calculada por gravimetria, segundo a expressão:

$$\% \text{ PM} = (MI - MF) 100/MI,$$

em que MI é a massa inicial e MF a massa da amostra, no dia da avaliação.

2.1.3 Sólidos solúveis

Os sólidos solúveis foram determinados por refratometria, conforme as normas da Association of Official Agricultural Chemists - AOAC (1998), utilizando-se refratômetro digital, homogeneizando-se as amostras e transferindo de uma ou duas gotas do material para o prisma do refratômetro. Os resultados foram expressos em °BRIX.

2.1.4 Açúcares solúveis totais

Os açúcares solúveis totais foram determinados por espectrofotometria a 620 nm, pelo método de antrona (YEMM; WILLIS, 1954).

2.1.5 Acidez titulável e pH

A acidez titulável foi determinada por titulação com solução de hidróxido de sódio (NaOH) 0,01N, utilizando-se como indicador a fenolftaleína, de acordo com o Instituto Adolfo Lutz (1985). Os resultados foram expressos em porcentagem de ácido cítrico. Já o potencial hidrogeniônico foi determinado utilizando-se um pHmetro Schott Handylab, segundo técnica aconselhada pela AOAC (1998).

2.1.6 Firmeza

A firmeza de frutos inteiros foi obtida determinando-se dois pontos na região equatorial do fruto, com o auxílio de um texturômetro table Micro System, modelo TAXT2i, probe 2/N e os resultados foram expressos em Newtons (N).

2.1.7 Pectina total, pectina solúvel e % de solubilização

As pectinas total e solúvel foram extraídas de acordo com a técnica de MCCready e MCComb (1952) e determinadas espectrofotometricamente a 520 nm, segundo técnica de Blumenkrantz e Asboe-Hansen (1973). Os resultados foram expressos em mg de ácido galacturônico.100 g⁻¹ de polpa. O percentual de solubilização foi obtido pela razão entre pectina solúvel/pectina total.

2.1.8 Pectinametilesterase (E.C. 3.1.1.11)

A atividade enzimática foi determinada pela técnica descrita por Jen e Robinson (1984). O substrato utilizado foi a pectina cítrica a 1% em NaCl 0,1 Mol.L⁻¹, pH 7,0, à temperatura ambiente. A taxa de desmetilação da pectina, adicionada do extrato enzimático, foi medida pela titulação da mistura da reação com NaOH 0,01 Mol.L⁻¹, mantendo-se o pH 7,0 por 10 minutos. Uma unidade de atividade foi considerada como sendo a quantidade de enzima capaz de catalizar a desmetilação de pectina correspondente a um micromol de NaOH por minuto, nas condições do ensaio. Os resultados foram expressos em unidades por grama de peso fresco ($\mu\text{mol}^{-1}\text{g}^{-1}\text{min}$).

2.1.9 Poligalacturonase (EC 3.2.1.15)

A extração foi realizada de acordo com a metodologia de Buecher & Furmanski (1978). Amostras de 5g foram trituradas em politron com 50 mL de água destilada gelada, a 4°C. O homogenato resultante foi filtrado em papel de filtro. O resíduo foi lavado mais uma vez com água destilada e, em seguida, ressuspensionado em NaCl 1,0 Mol.L⁻¹ e submetido à homogeneização por um minuto. O pH foi ajustado para 6 com NaOH e o novo homogenato foi incubado

a 4°C, por uma hora. Depois de incubado, o volume foi completado para 30mL com NaCl 1,0 Mol.L⁻¹ e filtrado com papel de filtro. O sobrenadante constituiu a fonte enzimática. A determinação da atividade enzimática foi realizada segundo Pressey & Avants (1973). O extrato foi incubado com ácido galacturônico 0,25% em tampão acetato de sódio 37,5mM pH 5,0, a 30 °C, por 3 horas. A reação foi interrompida em banho-maria fervente e os grupos redutores liberados determinados pela técnica Somogyi, modificada por Nelson (1944), utilizando-se ácido galacturônico como padrão. Os resultados foram expressos em unidades de atividade de poligalacturonase por minuto ($\mu\text{mol}^{-1}\text{g}^{-1}\text{min}$).

2.1.10 Vitamina C

O teor de ácido ascórbico foi determinado pelo método colorimétrico, utilizando-se 2,4 dinitrofenil-hidrazina, segundo Strohecker e Henning (1967). A leitura foi realizada em espectrofotômetro Beckman 640 B, com sistema computadorizado e os resultados foram expressos em mg de ácido ascórbico por 100 g⁻¹ de polpa.

2.1.11 Antocianinas totais (AT)

O conteúdo de antocianinas totais foi determinado pelo método da diferença de pH (GIUSTI; WROSLTAD, 2001), em que se dissolve em dois sistemas-tampão: cloreto de potássio pH 1,0 (0,025M) e acetato de sódio pH 4,5 (0,4M). Foram adicionados 2,5 mL da correspondente dissolução tampão pH=1,0 a 1,5 mL da amostra de vinho e 2,5 mL da dissolução tampão pH=4,5 a 1,5 mL da amostra de vinho e as leituras das absorbâncias foram realizadas a 510 e 700 nm.

A absorvância foi calculada a partir da equação:

$$A = (A_{510nm} - A_{700nm})pH_{1,0} - (A_{500nm} - A_{700nm})pH_{4,5}$$

A concentração de pigmentos no extrato foi calculada e representada em cianidina-3-glicosídeo.

$$\text{Antocianinas (mg.l}^{-1}\text{)} = (A \times \text{PM} \times \text{FD} \times 1000) / (\varepsilon \times 1)$$

em que A = absorvância; MM = massa molecular; FD = fator de diluição e ε = absorvância molar.

2.1.12 Compostos fenólicos totais

Para a obtenção do extrato, seguiu-se o mesmo procedimento utilizado para a atividade antioxidante. A determinação do teor de fenólicos totais foi feita pelo método proposto por Waterhouse (2002), empregando-se o reagente de Folin-Ciocalteu. Em resumo, 0,5 mL de extrato de cada amostra foram adicionados aos tubos contendo 2,5 mL de solução de Folin-Ciocalteu 10%. Em seguida, foram adicionados 2 mL de solução de carbonato de sódio 4%. Os tubos foram agitados e deixados em repouso, por 2 horas, ao abrigo da luz. A cor azul produzida pela redução do reagente Folin-Ciocalteu pelos fenólicos foi medida espectrofotometricamente, na faixa de absorção de 750 nm. O cálculo do teor de fenólicos foi realizado a partir da equação da reta obtida da curva padrão do ácido gálico. Os resultados foram expressos em mg de equivalentes de ácido gálico por 100 g da amostra (mg EAG.100g⁻¹).

2.1.13 Atividade antioxidante total DPPH

Para a obtenção do extrato, foram pesados 2 g das amostras, às quais foram adicionadas 20 mL de álcool metílico 50%. Essa mistura foi homogeneizada e deixada em repouso por 1 hora, à temperatura ambiente. Após este período, a mistura foi centrifugada, a 14.000 rpm, por 15 minutos. O sobrenadante foi coletado e foram adicionados 20 mL de acetona 70% ao resíduo, que foi homogeneizado e deixado em repouso por 1 hora, à temperatura ambiente. Em seguida, centrifugou-se, a 14.000 rpm, por 15 minutos. O sobrenadante foi coletado, adicionado ao primeiro sobrenadante e o volume foi completado para 50 mL com água destilada.

A metodologia empregada na determinação da atividade antioxidante foi baseada na extinção da absorção do radical 2,2-difenil-1-picril hidrazil (DPPH 60 µM), proposta por Rufino et al. (2007), com algumas adaptações em relação ao cálculo, calculando-se o percentual de sequestro do radical DPPH a partir do padrão.

Foi adicionado 0,1 mL de cada extrato das amostras a 3,9 mL de solução de DPPH. Para o controle, foi adicionado 0,1 mL de metanol, juntamente ao DPPH, no lugar do extrato. As leituras foram realizadas após 120 minutos, em espectrofotômetro, a 515 nm e os resultados foram expressos em percentual de sequestro de radical livre (%SRL), conforme equação a seguir:

$$\%SRL = (Ac - Am) \times 100 / Ac$$

em que Ac = absorbância do controle e Am = absorbância da amostra

2.1.14 Análises estatísticas

A análise estatística das variáveis avaliadas foi realizada utilizando-se do software Sisvar. Realizou-se a análise de variância por meio do teste F, para

verificar a diferença entre os tratamentos. As médias dos tratamentos, quando significativas, foram comparadas, pelo teste de Tukey, a 5% de probabilidade. Quando encontrada diferença significativa na interação entre os fatores, foi feita a análise de regressão.

2.2 Delineamento experimental

O trabalho foi conduzido em delineamento inteiramente casualizado (DIC). Os tratamentos foram dispostos em fatorial 3x6, sendo constituído por três tratamentos (embalagem de polipropileno com tampa do mesmo polímero, embalagem de poliestireno revestida com filme PVC 20 μm , embalagem de polietileno com tampa do mesmo polímero) e seis tempos de armazenamento (0, 3, 5, 7, 9 e 12 dias), contendo três repetições. Cada unidade experimental foi constituída, em média, por 120 g de frutos.

3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

3.1 Análise instrumental da cor

De acordo com os resultados, observa-se que a variável L^* foi influenciada pela interação entre embalagens e tempo de armazenamento (Gráfico 1). As três embalagens apresentaram comportamento semelhante, com redução dos valores de L^* ao longo do armazenamento.

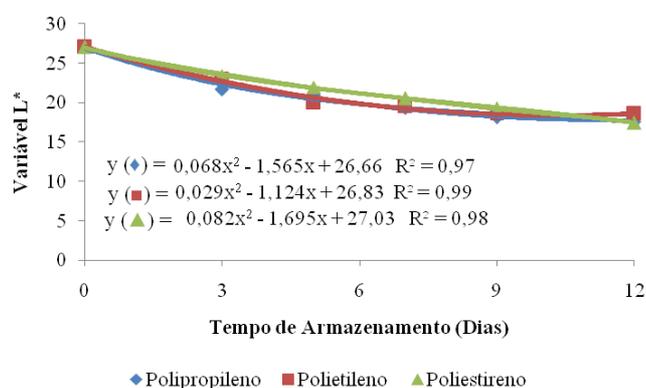


Gráfico 1 Equação de regressão e coeficiente de determinação do valor L^* de amoras-pretas acondicionadas em diferentes embalagens: PP, PS revestida com filme PVC 20 μm e PET, armazenadas sob refrigeração, a 0 ± 1 $^\circ\text{C}$ e $90\pm 5\%$ de umidade relativa.

O parâmetro L^* identifica a luminosidade da amostra, cujos valores variam do preto ao branco. Esta redução nos valores de L^* pode estar relacionada a um aumento na síntese de antocianinas, visto que a coloração das amoras é dada pelo seu conteúdo antocianínico ou pela oxidação de compostos fenólicos, originando produtos de coloração escura.

As coordenadas “ a^* ” e “ b^* ” estão mais relacionadas à tonalidade. O valor de “ a^* ”, ao assumir valores negativos, indica a coloração esverdeada e,

quando positivo, a coloração vermelho-púrpura, enquanto o valor de “b*”, quando negativo, indica cor azul e positivo, cor amarela.

Em relação ao valor a*, observa-se que esta variável foi influenciada apenas pelo tempo de armazenamento (Gráfico 2). Houve redução de seus valores até o nono dia, o que indica ligeira perda da coloração avermelhada. Já em relação ao valor b*, não foi verificada influência significativa pelos fatores avaliados, apresentando valor médio de -1,90.

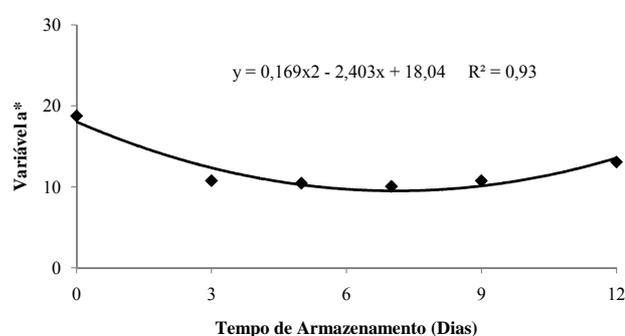


Gráfico 2 Equação de regressão e coeficiente de determinação do valor a* de amoras-pretas armazenadas em diferentes embalagens: PP, PS revestida com filme PVC 20 μm e PET, armazenadas sob refrigeração, a 0 ± 1 °C e $90\pm 5\%$ de umidade relativa.

3.2 Perda de massa

A perda de massa foi influenciada significativamente pela interação embalagem e tempo de armazenamento (Gráfico 3). Houve aumento na perda de massa, ao longo do armazenamento. A embalagem de poliestireno revestida com filme PVC proporcionou a maior perda de massa, quando comparada às embalagens de polietileno e polipropileno, possivelmente por este apresentar maior permeabilidade que as demais.

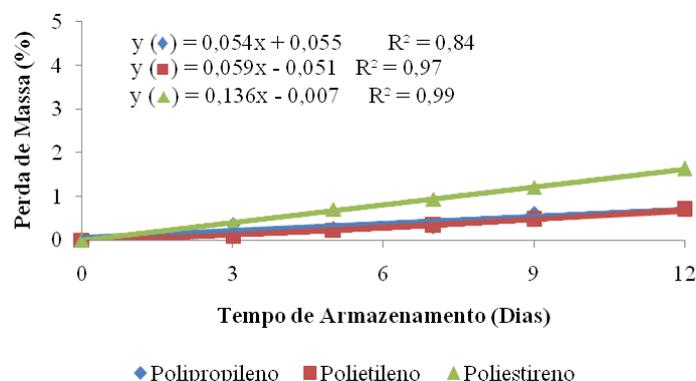


Gráfico 3 Equação de regressão e coeficiente de determinação do valor de perda de massa de amoras-pretas armazenadas em diferentes embalagens: PP, PS revestida com filme PVC 20 μm e PET, armazenadas sob refrigeração, a 0 ± 1 $^{\circ}\text{C}$ e $90\pm 5\%$ de umidade relativa.

A perda de massa é um dos principais fatores na vida de armazenamento de muitos produtos hortícolas. Segundo Chitarra e Chitarra (2005), as frutas e hortaliças, mesmo quando mantidas em condições ideais, sofrem alguma perda de massa durante o armazenamento, devido ao efeito combinado de respiração e transpiração.

Antunes, Duarte Filho e Souza (2003) constataram perdas significativas de massa durante o armazenamento dos frutos de amoreira-preta, atingindo 14,86% para frutos acondicionados, a 20 $^{\circ}\text{C}$, por 12 dias. De acordo com os mesmos autores, a utilização de embalagem de polietileno de baixa densidade, aliada ao uso de refrigeração, reduziu significativamente a perda de massa dos frutos para as cultivares Brazos e Comanche.

A redução de perda de massa com o uso da embalagem está diretamente relacionada à taxa de permeabilidade ao vapor d'água do filme. Quanto menor a taxa de transmissão, menor será o déficit de pressão de vapor e maior a umidade

relativa no interior da embalagem, reduzindo, conseqüentemente, a transpiração dos frutos (ANTUNES; DUARTE FILHO; SOUZA, 2003).

3.3 pH, sólidos solúveis, acidez titulável e açúcares totais

O pH foi influenciado apenas pelos dias de armazenamento (Gráfico 4), observando-se uma leve oscilação dos valores de pH ao longo do tempo. O valor médio encontrado foi de 3,19.

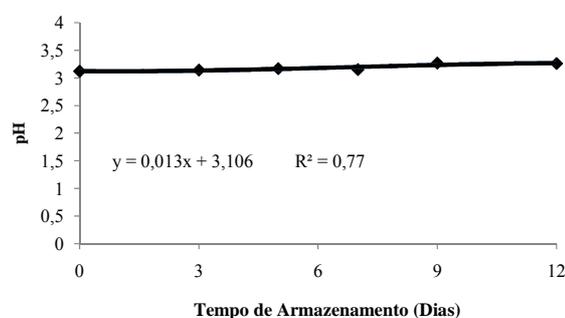


Gráfico 4 Equação de regressão e coeficiente de determinação da variável pH de amoras-pretas acondicionadas em diferentes embalagens: PP, PS revestida com filme PVC 20 μm e PET, armazenadas sob refrigeração, a 0 ± 1 °C e $90\pm 5\%$ de umidade relativa.

A tendência de variação de pH pode ser explicada pela resposta do tecido ao neutralizar a acidez gerada pelo CO_2 (RINALDI; BENEDETTI; CALORE, 2005) ou pode estar relacionada ao consumo dos ácidos orgânicos pelo processo respiratório.

Na utilização de atmosfera modificada para conservação pós-colheita da amora-preta dos cultivares Guarani e Caingangue, Cia et al. (2007) também não observaram efeito da embalagem nos teores de pH.

Os fatores tempo de armazenamento e embalagem não afetaram significativamente os teores de sólidos solúveis dos frutos. Observou-se concentração média de 5,94 °Brix.

Antunes, Duarte Filho e Souza, (2003), ao avaliarem a qualidade pós-colheita de amoras, verificaram que não houve mudanças significativas no teor de sólidos solúveis totais das amoras armazenadas a 2 °C, durante o período de armazenamento. Já para aquelas armazenadas a 20 °C ocorreu redução nos teores de sólidos solúveis totais ao longo do tempo.

Walsh, Popenoe e Solomos (1983), ao determinarem o conteúdo de sólidos solúveis em frutos de amoreira-preta ('Dirksen thornless', 'Smoothstem' e 'Hull thornless') observaram um decréscimo significativo de sólidos solúveis totais, depois de sete dias de armazenamento a 25 °C. No entanto, resultado inverso foi apresentado por Perkins-Veazie e Clark (1996), que verificaram aumento dos sólidos solúveis nas cultivares de amoreira preta Choctaw, Cheyenne, Navaho e Shawnee, após sete dias de estocagem a 2 °C. Ambos os resultados não foram verificados neste trabalho.

A acidez titulável, expressa em porcentagem de ácido cítrico, foi afetada significativamente pelas embalagens e pelo tempo de armazenamento (Gráfico 5).

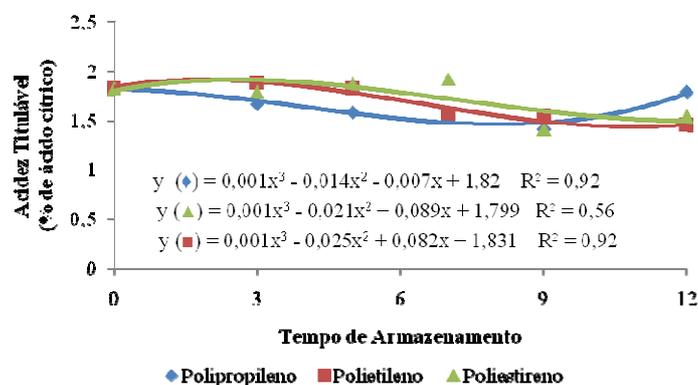


Gráfico 5 Equação de regressão e coeficiente de determinação da variável acidez titulável de amoras-pretas acondicionadas em diferentes embalagens: PP, PS revestida com filme PVC 20 µm e PET, armazenadas sob refrigeração, a 0±1 °C e 90±5% de umidade relativa.

De acordo com Antunes, Duarte Filho e Souza (2003), amoras da cultivar Brazos apresentaram redução da acidez ao longo dos dias de armazenamento.

Contudo, os frutos armazenados na embalagem de polipropileno sofreram redução dos seus valores até o nono dia de armazenamento, seguido por um leve aumento a partir deste dia. Este leve aumento na acidez pode estar associado a uma geração de radicais ácidos oriundos a partir da degradação dos constituintes da parede celular, tais como as pectinas (RINALDI; BENEDETTI; CALORE, 2005).

Os teores de açúcares totais dos frutos foram influenciados interativamente por tempo e embalagem (Gráfico 6).

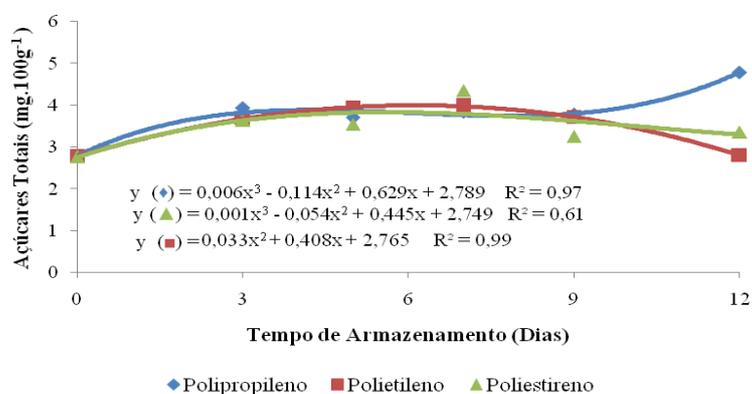


Gráfico 6 Equação de regressão e coeficiente de determinação da variável açúcares totais de amoras-pretas acondicionadas em diferentes embalagens: PP, PS revestida com filme PVC 20 μ m e PET, armazenadas sob refrigeração, a 0 ± 1 °C e $90\pm 5\%$ de umidade relativa.

As amoras armazenadas se comportaram de forma semelhante, com ligeira elevação até o terceiro dia de avaliação, estabilização a partir daí e decréscimo de seus valores no final do armazenamento para os frutos armazenados nas embalagens de polietileno e poliestireno e uma discreta elevação para os frutos armazenados na embalagem de polipropileno.

3.4 Avaliação textural

A firmeza dos frutos foi influenciada significativamente apenas pelo tempo de armazenamento, observando-se ligeira redução da firmeza com o decorrer dos dias (Gráfico 7).

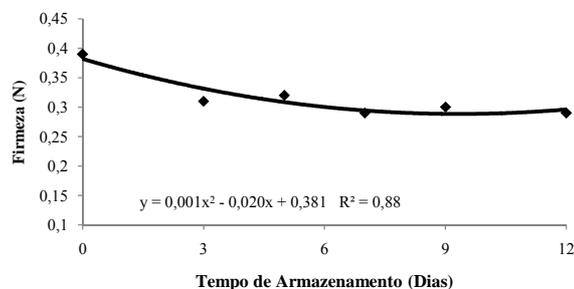


Gráfico 7 Equação de regressão e coeficiente de determinação da variável firmeza de amoras-pretas acondicionadas em diferentes embalagens: PP, PS revestida com filme PVC 20 μm e PET, armazenadas, sob refrigeração a 0 ± 1 $^{\circ}\text{C}$ e $90\pm 5\%$ de umidade relativa.

O amolecimento é a alteração mais marcante durante o armazenamento pós-colheita de frutos e pode ser resultante de dois processos: perda excessiva de água e modificações na lamela média e parede celular, devido à atividade enzimática (KLUGE et al., 1997).

Os fatores dias de armazenamento e embalagens afetaram significativamente o teor de pectina solúvel e a porcentagem de solubilidade dos frutos (Gráficos 8 A e 8 B).

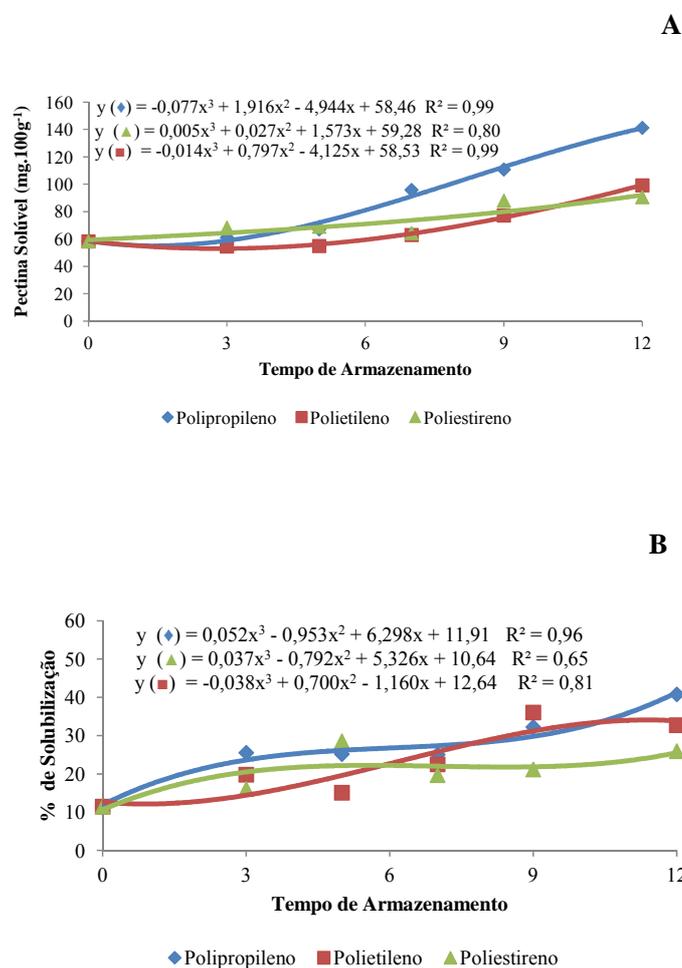


Gráfico 8 Equação de regressão e coeficiente de determinação da variável pectina solúvel (8A) e porcentagem de solubilização (8B) de amoras-pretas acondicionadas em diferentes embalagens: PP, PS revestida com filme PVC 20 μ m e PET, armazenadas sob refrigeração, a 0 ± 1 °C e $90 \pm 5\%$ de umidade relativa.

A pectina solúvel apresentou um acréscimo dos valores ao longo dos dias de armazenamento, sendo este aumento mais pronunciado nos frutos acondicionados na embalagem de polipropileno. Para a porcentagem de solubilização, observou-se comportamento semelhante entre as três embalagens, visto que houve um aumento gradual ao longo dos dias, atingindo o maior valor nos frutos armazenados na embalagem de polipropileno.

As substâncias pécticas constituem um grupo heterogêneo de polissacarídeos, contendo, caracteristicamente, açúcares ácidos, como ácido galacturônico e açúcares neutros, tais como ramnose, galactose e arabinose (TAIZ; ZIGER, 2004). No transcorrer da maturação, após o fruto atingir o tamanho máximo, o cálcio é desprendido da protopectina pela ação de uma protopectinase, iniciando a solubilização da pectina (KLUGE et al., 1997).

Em frutos, o amaciamento dos tecidos está relacionado com mudanças na estrutura da parede celular. Usualmente, ocorre modificação no grau de contato entre as células, devido à degradação e à solubilização das pectinas e a modificações na estrutura das paredes celulares, decorrentes da ação de diversas enzimas. Dessa forma, há decomposição das macromoléculas, como protopectinas, celulose, hemicelulose e amido, amaciando as paredes celulares pela diminuição da força coesiva que mantém as células unidas (CHITARRA; CHITARRA, 2005), ocasionando, assim, diminuição da firmeza do fruto.

Corroborando os resultados do presente estudo, Antunes, Gonçalves e Trevisan (2006) também observaram um aumento no teor de pectina solúvel das amoras ao longo do período de armazenamento. De acordo com Carvalho (1994), o percentual de pectina solúvel serve como indicador de textura, sendo que elevada porcentagem de pectina solúvel indica frutos de textura fraca e pouco resistentes.

Antunes, Gonçalves e Trevisan (2006) observaram que o percentual de solubilização da cultivar Brazos foi superior à da Comanche até o nono dia,

reduzindo-se no décimo segundo dia. No presente trabalho, foram encontrados menores valores de porcentagem de solubilização quando comparado ao trabalho dos mesmos autores (ANTUNES; GONÇALVES; TREVISAN, 2006).

Avaliando-se a atividade enzimática, percebe-se que as enzimas pectinametilesterase (PME) e poligalacturonase (PG) foram influenciadas significativamente pelos fatores tempo de armazenamento e tipo de embalagem (Gráfico 9 e 10). Em relação à PME, as três embalagens se comportaram de forma semelhante, mostrando uma ascensão da atividade enzimática até o nono dia de armazenamento, seguida por um ligeiro declínio (Gráfico 9), exceto para os frutos armazenados na embalagem de poliestireno que apresentaram aumento até o final do armazenamento. Com relação à PG, os resultados permitem inferir que a atividade desta nos frutos armazenados em embalagens de polipropileno e poliestireno foi ascendente ao longo do armazenamento e superior à atividade enzimática dos frutos armazenados em embalagens de polietileno (Gráfico 10).

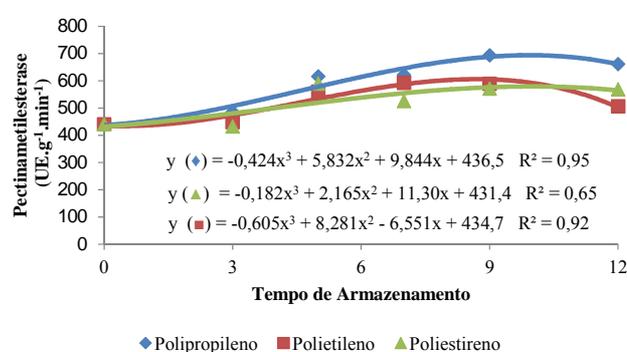


Gráfico 9 Equação de regressão e coeficiente de determinação da variável pectinametilesterase de amoras-pretas acondicionadas em diferentes embalagens: PP, PS revestida com filme PVC 20 μm e PET, armazenadas sob refrigeração, a $0\pm 1^\circ\text{C}$ e $90\pm 5\%$ de umidade relativa.

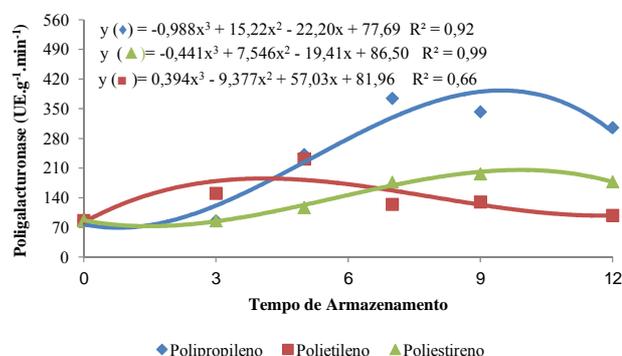


Gráfico 10 Equação de regressão e coeficiente de determinação da variável poligalacturonase de amoras-pretas acondicionadas em diferentes embalagens: PP, PS revestida com filme PVC 20 µm e PET, armazenadas sob refrigeração, a 0±1°C e 90±5% de umidade relativa.

As enzimas pectinametilesterase (PME) e a poligalacturonase (PG) atuam na modificação da textura: a PME promove a desesterificação ou remoção dos grupos metílicos ou acetil da cadeia, enquanto a PG atua na despolimerização ou encurtamento da cadeia do ácido poligalacturônico (KLUGE et al., 1997). Com as atividades destas enzimas, a pectina passa da forma insolúvel para a forma solúvel, observando-se marcante amolecimento da polpa dos frutos.

Ali, Chin e Lazan (2004) afirmam que a importância da PME no amaciamento dos frutos é ampliada quando se considera que essa enzima pode contribuir, direta ou indiretamente, para a ação de outras, ao criar um ambiente iônico adequado ou, possivelmente, ao modificar a porosidade da parede celular, favorecendo, dessa forma, o acesso de outras enzimas aos seus substratos potenciais.

Antunes, Gonçalves e Trevisan (2006), estudando amoras-pretas, observaram que a PME aumentou linearmente com o aumento do período de

armazenamento, para as cultivares Comanche e Brazos, tendo a primeira apresentado atividade enzimática maior durante todo o período de armazenamento. Ainda de acordo com os mesmos autores, nos frutos ocorreu um aumento inicial da atividade da poligalacturonase até o sexto dia, para amoras da cv. Brazos, decrescendo a partir daí, até o 12º dia de armazenamento.

No presente estudo, observou-se que houve um aumento concomitante da atividade de PME e PG ao longo do armazenamento. Frutos armazenados em embalagens de polipropileno apresentaram maior atividade enzimática.

3.5 Compostos bioativos nas amoras

O teor de vitamina C foi afetado significativamente pela interação dias de armazenamento e embalagem (Gráfico 11).

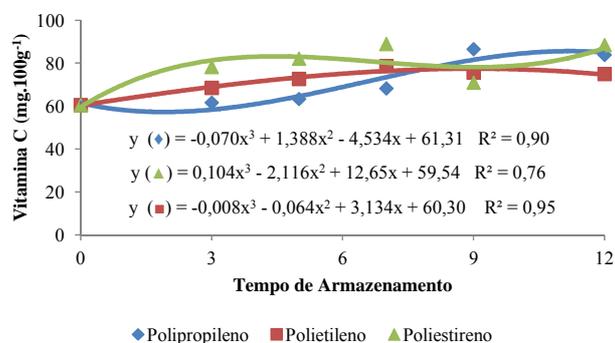


Gráfico 11 Equação de regressão e coeficiente de determinação da variável vitamina C de amoras-pretas acondicionadas em diferentes embalagens: PP, PS revestida com filme PVC 20 µm e PET, armazenadas sob refrigeração a 0±1 °C e 90±5% de umidade relativa.

Frutos armazenados na embalagem de polietileno apresentaram elevação dos valores de vitamina C até o nono dia, seguida por um leve decréscimo no décimo segundo dia. Os frutos armazenados nas embalagens de polipropileno mantiveram uma leve ascensão dos valores até o final do armazenamento.

O tratamento com atmosfera modificada promove redução da taxa metabólica dos frutos, reduzindo, conseqüentemente, o consumo de O₂, reduzindo as reações oxidativas e resultando em menores perdas de ácido ascórbico (KADER, 2002).

Ao avaliar a conservação pós-colheita de amora-preta, Antunes, Duarte Filho e Souza (2003) encontraram valores de vitamina C variando entre 60 e 110 mg.100⁻¹g, para as cultivares Brazos e Comanche. Além disso, observaram que frutos armazenados a 2 °C não apresentaram perda de vitamina C durante o armazenamento, corroborando os resultados do presente estudo. No entanto, Pilecco, Chim e Zambiasi (2006), ao avaliarem o teor de vitamina C em amoras-pretas cultivares Brazos, Guarani e Tupy, encontraram valor significativamente inferior, 15,17 mg. 100g⁻¹, quando foi avaliado por titulometria.

Os fatores tempo de armazenamento e embalagens influenciaram significativamente os teores de antocianinas (Gráfico 12).

Verifica-se que os frutos armazenados nas embalagens de polietileno e poliestireno apresentaram comportamento semelhante quanto à pequena oscilação nos teores de antocianinas durante o armazenamento, tendo, no último dia de análise, a embalagem de poliestireno apresentado conteúdo maior. Os frutos armazenados nas embalagens de polipropileno apresentaram menor conteúdo de antocianinas, exceto no nono dia, quando observaram maiores valores para frutos esta embalagem.

Chim (2008) identificaram um conteúdo de antocianinas totais na polpa de amora-preta recém-processada em torno de 140,73 mg cianidina-3-glicosídeo

por 100 g⁻¹ de polpa, sendo este valor semelhante ao encontrado no presente estudo.

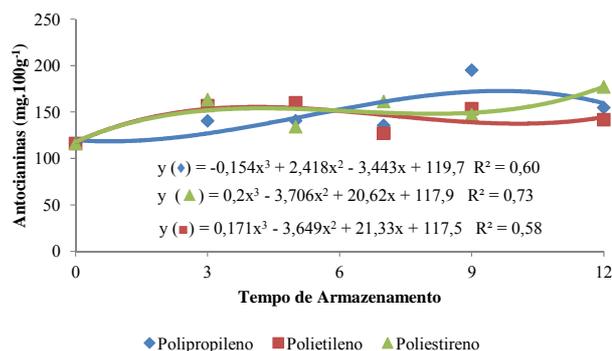


Gráfico 12 Equação de regressão e coeficiente de determinação da variável antocianinas totais de amoras-pretas acondicionadas em diferentes embalagens: PP, PS revestida com filme PVC 20 µm e PET, armazenadas sob refrigeração, a 0±1°C e 90±5% de umidade relativa.

As diferenças observadas quanto ao conteúdo de antocianinas totais podem também estar relacionadas com variações genéticas, condições ambientais durante a colheita e ação enzimática na pós-colheita, principalmente devido a processos oxidativos das polifenoloxidasas, cujo principal substrato é a cianidina-3-glicosídeo.

Ferreira, Rosso e Mercadante (2009), ao avaliarem os compostos bioativos presentes em amora-preta (*Rubus* spp.), encontraram valores de antocianinas totais próximo a 150,8 mg.100⁻¹g de fruto. Além disso, afirmaram que a cianidina 3-glucosídeo foi a antocianina majoritária, correspondendo a ±92,9% do total antociânico dos frutos.

Os compostos fenólicos totais foram influenciados pela interação tempo de armazenamento e embalagens (Gráfico 13). Observa-se que houve leve

oscilação dos valores de fenólicos totais ao longo do armazenamento, ocorrendo, inicialmente, uma ascensão dos valores, seguida por uma queda discreta. A redução destes compostos pode ser devido aos processos de complexação e polimerização dos taninos (MENEZES, 1994).

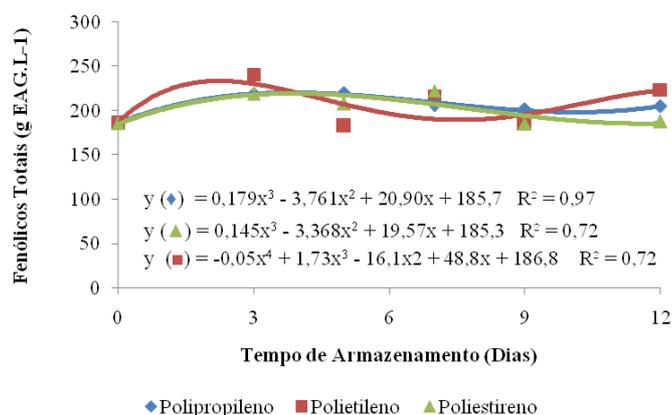


Gráfico 13 Equação de regressão e coeficiente de determinação da variável compostos fenólicos totais de amoras-pretas acondicionadas em diferentes embalagens: PP, PS revestida com filme PVC 20 μm e PET, armazenadas sob refrigeração, a 0±1°C e 90±5% de umidade relativa.

Frutos armazenados na embalagem de poliestireno e polipropileno, no último dia de análise, apresentaram teor de compostos fenólicos inferior à outra embalagem. Este fato pode ser atribuído a uma maior permeabilidade de gases dentro da embalagem, favorecendo a oxidação desses compostos pelas enzimas oxidativas, tais como polifenoloxidase e peroxidase.

Chim (2008) encontrou valores de fenóis totais de 1938,70 mg ácido gálico por 100 g⁻¹ de polpa, valor bem superior ao citado no presente estudo para frutos da mesma cultivar. Estas variações no conteúdo de compostos

fenólicos podem estar relacionadas às diferenças de metodologias empregadas na extração da amostra.

Antunes, Gonçalves e Trevisan (2006) afirmaram que a cv. Comanche apresentou maiores teores de compostos fenólicos totais em relação à ‘Brazos’, com valores entre 400 e 500 ($\text{mg} \cdot 100^{-1}$). Ferreira, Rosso e Mercadante (2009) encontraram teores de compostos fenólicos próximos a 241,7 (mg equivalente de ácido gálico. 100^{-1}g), corroborando os dados do presente estudo.

O método de medida da capacidade antioxidante DPPH vem sendo aplicado para avaliar a atividade antirradical livre de inúmeras substâncias e baseia-se na propriedade que os compostos antioxidantes presentes em uma amostra tem de capturar o radical de DPPH livre no meio e promover, com isso, uma atenuação da cor do meio reagente.

A porcentagem de sequestro de radical livre sofreu influência apenas do tempo de armazenamento (Gráfico 14). Observa-se que houve um aumento inicial na atividade antioxidante até o terceiro dia, seguido por um declínio no decorrer do armazenamento.

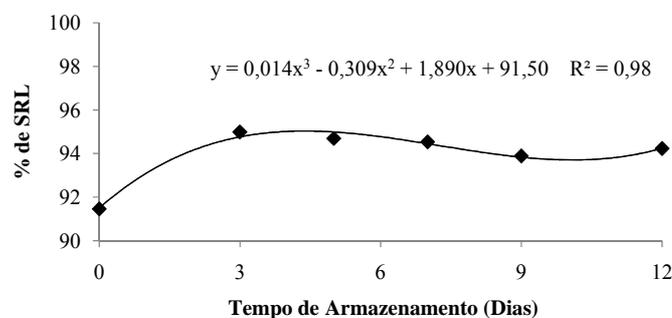


Gráfico 14 Equação de regressão e coeficiente de determinação da variável porcentagem de sequestro radical livre de amoras-pretas acondicionadas em diferentes embalagens: PEP, PS revestida com filme PVC 20 μm e PET, armazenadas sob refrigeração, a $0 \pm 1^\circ\text{C}$ e $90 \pm 5\%$ de umidade relativa.

Os compostos fenólicos são os maiores responsáveis pela atividade antioxidante em frutos (HEIM et al., 2002). Embora a vitamina C seja considerada, por alguns autores, como o maior contribuinte na atividade antioxidante, Sun et al. (2002) demonstraram que a contribuição da vitamina C na determinação da atividade antioxidante de onze frutos é baixa e afirmaram que a maior contribuição para a atividade antioxidante total de frutos se deve à composição de compostos fenólicos.

Santos et al. (2008) aplicaram a correlação de Pearson entre as variáveis ácido ascórbico, carotenoides, antocianinas e compostos fenólicos encontrados em polpas de açaí e verificaram correlação para as variáveis antocianinas ($R=0,72$) e compostos fenólicos ($R= 0,59$), a 5% de probabilidade.

No entanto, o potencial antioxidante de frutas está intimamente relacionado com a composição específica dos diferentes tipos de compostos fenólicos presentes, uma vez que a atividade antioxidante ótima de um composto depende de sua configuração espacial e do número e da posição dos grupos hidroxila presentes em sua estrutura (KUSKOSKI et al., 2004).

Ao avaliar os compostos bioativos presentes em amora-preta, Ferreira, Rosso e Mercadante (2010) verificaram que as antocianinas têm papel fundamental como antioxidantes naturais nesta fruta, representando em torno de 65% da atividade antirradical livre dos compostos fenólicos totais. Hassimotto et al. (2008) observaram correlação linear entre os teores de cianidina e capacidade antioxidante em cinco cultivares de amora. Além disso, a cianidina 3-glucosídeo, antocianina majoritária em amora-preta, também foi citada como responsável pela atividade antioxidante nestas frutas (WANG; LIN, 2000).

Chim (2008) encontrou um percentual de inibição de radicais livres pelo método de DPPH maior na cv. Brazos (88,14), seguida pela cv. Tupy (87,6) e com menores valores a cv. Guarani (86,93), embora estas não tenham diferido estatisticamente.

A amora-preta apresentou maior percentual de sequestro de radical livre, quando comparada a frutos como o açai e o morango (DUARTE-ALMEIDA et al., 2006).

4 CONCLUSÕES

A embalagem de polipropileno com tampa do mesmo polímero apresentou as maiores oscilações ao longo do tempo, principalmente das variáveis relacionadas ao perfil textural, dificultando, assim, a conservação da amora-preta nesse tipo de embalagem.

As embalagens de poliestireno revestidas com filme de policloreto de vinila 20 μm apresentaram maior perda de massa.

As embalagens de polietileno determinaram menores oscilações ao longo do tempo, principalmente no que diz respeito à menor solubilização de substâncias pécicas, proporcionando, assim, a melhor conservação da amora-preta.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ALI, Z. M.; CHIN, L. H.; LAZAN, H. A comparative study on wall degrading enzymes, pectin modifications and softening during ripening of selected tropical fruits. **Plant Science**, Shannon, v. 167, n. 2, p. 317-327, Aug. 2004.

ANTUNES, L. E. C. Amora-preta: nova opção de cultivo no Brasil. **Ciência Rural**, Santa Maria, v. 32, n. 1, p. 151-158, Jan./Fev. 2002.

ANTUNES, L. E. C.; DUARTE FILHO, J.; SOUZA, C. M. Conservação pós-colheita de frutos de amoreira-preta. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v. 38, n. 3, p. 413-419, Mar. 2003.

ANTUNES, L. E. C.; GONÇALVES, E. D.; TREVISAN, R. Alterações da atividade da poligalacturonase e pectinametilesterase em amora-preta (*Rubus* spp.) durante o armazenamento. **Revista Brasileira de Agrociência**, Pelotas, v. 12, n. 1, p. 63-66, jan./mar. 2006.

ASSOCIATION OF OFFICIAL AGRICULTURAL CHEMISTS. **Official methods of the Association of the Agricultura Chemists**. Washington, 1998. 1094 p.

BLUMENKRANTZ, N.; ASBOE-HANSEN, G. New method for quantitative determination of uronic acids. **Analytical Biochemistry**, New York, v. 54, n. 2, p. 484-489, Aug. 1973.

BUESCHER, R. W.; FURMANSKI, R. J. Role of pectinesterase and polygalacturonase in the formation of woolliness um peaches. **Journal of Food Science**, Chicago, v. 43, n. 1, p. 264-266, Jan./Feb. 1978.

CARVALHO, V. D. de. Qualidade e conservação pós-colheita de goiabas. **Informe Agropecuário**, Belo Horizonte, v. 17, n. 179, p. 48-54, 1994.

CIA, P. et al. Atmosfera modificada e refrigeração para conservação pós-colheita de amora-preta. **Bioscience Journal**, Uberlândia, v. 23, n. 3, p. 11-16, 2007.

CHIM, J. F. **Caracterização de compostos bioativos em amora-preta (*Rubus* sp.) e sua estabilidade no processo e armazenamento de geléias convencional e light**. 2008. 87 f. Tese (Doutorado em Ciência e Tecnologia Agroindustrial) - Universidade Federal de Pelotas, Pelotas, 2008.

CHITARRA, M. I. F.; CHITARRA, A. B. **Pós-colheita de frutos e hortaliças: fisiologia e manuseio**. 2. ed. rev. e ampl. Lavras: UFLA, 2005. 783 p.

DUARTE-ALMEIDA, J. M. et al. Avaliação da atividade antioxidante utilizando sistema β -caroteno/ácido linoléico e método de seqüestro de radicais DPPH. **Ciência Tecnologia de Alimentos**, Campinas, v. 26, n. 2, p. 446-452, Abr./Jun. 2006.

FERREIRA, D. S.; ROSSO, V. V. Compostos bioativos presentes em amora-preta (*Rubus* spp.). **Revista Brasileira de Fruticultura**, Jaboticabal, v. 32, n. 3, p. 174-179, Maio/Jun. 2009.

FERREIRA, D. S.; ROSSO, V. V.; MERCADANTE, A. Z. Compostos bioativos presentes em amora-preta (*Rubus* spp.). **Revista Brasileira de Fruticultura**, Jaboticabal, v. 32, n. 3, p. 664-674, Set. 2010.

FILGUEIRAS, H. A. C.; CHITARRA, M. I. F.; CHITARRA, A. B. Armazenamento de ameixas sob refrigeração e atmosfera modificada: 2., colapso interno (internal breakdown) e textura. **Revista Brasileira de Fruticultura**, Cruz das Almas, v. 18, n. 1, p. 129-135, Jan./fev. 1996.

GIUSTI, M. M.; WROLSTAD, R. E. Characterization and measurement of anthocyanins by UV-visible spectroscopy. In: WROLSTAD, R. E. (Ed.). **Current protocols in food analytical chemistry**. New York: J. Wiley, 2001. p. 1-13.

HASSIMOTTO, N. M. A. et al. Physico-chemical characterization and bioactive compounds of blackberry fruits (*Rubus* sp.) grown in Brazil. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, Campinas, v. 28, n. 3, p. 702-708, 2008.

HEIM, K. E. et al. Flavonoid antioxidants: chemistry metabolism and structure-activity relationships. **Journal of Nutrition Biochemistry**, London, v. 13, n. 10, p. 572-584, Oct. 2002.

INSTITUTO ADOLFO LUTZ. **Normas analíticas do Instituto Adolfo Lutz: métodos químicos e físicos para análise de alimentos**. 3. ed. São Paulo, 1985. v. 1, 266 p.

JEN, J.J.; ROBINSON, M.L.P. Pectinolytic enzymes in sweet bell peppers (*Capsicum annuum* L.). **Journal of Food Science**, Chicago, v.49, n.4, p.1045-1087, Mar./Apr. 1984.

KADER, A. A. **Postharvest technology of horticultural crops**. 3rd ed. Davis: University of California, 2002. 509 p.

KLUGE, R. A. et al. **Fisiologia e manejo pós-colheita de frutas de clima temperado**. Pelotas: UFPEL, 1997. 163 p.

KUSKOSKI, E. M. et al. Actividad antioxidante de pigmentos antocianicos. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, Campinas, v. 24, n. 4, p. 691-693, Out./dez. 2004.

MATHOOKO, F. M. Regulation of respiration metabolism in fruits and vegetables by carbon dioxide. **Postharvest Biology and Technology**, Amsterdam, v. 9, n. 2, p. 247-64, Apr. 1996.

MCCREADY, P. M.; MCCOMB, E. A. Extraction and determination of total pectic material. **Analytical Chemistry**, New York, v. 24, n. 12, p. 1586-1588, 1952.

MENEZES, J. B. Pós-colheita do pedúnculo do caju. **Informe Agropecuário**, Belo Horizonte, v. 17, n. 180, p. 13-17, 1994.

NELSON, N. A photometric adaptation os Somogyi method for determination of glicose. **Journal of Biological Chemistry**, Baltimore, v.135, n.1, p.136-175, Jan. 1944.

PERKINS-VEAZIE, P.; CLARK, J. R. Cultivar and maturity affect postharvest quality of fruit from erect blackberries. **HortScience**, Alexandria, v. 31, n. 2, p. 258-261, 1996.

PERKINS-VEAZIE, P. et al. Air shipment of 'Navaho' blackberry fruit to Europe is feasible. **HortScience**, Alexandria, v. 32, n. 1, p. 132-135, 1997.

PILECCO, J. L.; CHIM, J. F.; ZAMBIAZI, R. C. Vitamina C em amora- preta: comparação entre método titulométrico e cromatográfico. In: CONGRESSO DE INICIAÇÃO CIENTÍFICA, 15.; ENCONTRO DE PÓS GRADUAÇÃO, 7., 2006, Pelotas. **Anais...** Pelotas: UFPEL, 2006. 1 CD-ROM.

PRESSEY, R.; AVANTS, J.K. Solubilization of cell walls by tomato polygalacturonases: effects of pectinesterases. **Journal of Food Biochemistry**, Trumbull, v.1, n.6, p.57-74, Dec. 1982.

RINALDI, M. M.; BENEDETTI, B. C.; CALORE, L. Efeito da embalagem e temperatura de armazenamento em repolho minimamente processado. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, Campinas, v. 25, n. 3, p. 480-486, 2005.

RUFINO, M. do S. M. et al. **Metodologia científica**: determinação da atividade antioxidante total em frutas pela captura do radical livre DPPH. Fortaleza: EMBRAPA, 2007. 4 p.

SANTOS, G. M. et al. Correlação entre atividade antioxidante e compostos bioativos de polpas comerciais de açaí (*Euterpe oleracea* Mart). **Archivos Latinoamericanos de Nutrición**, Caracas, v. 58, n. 2, p. 187-192, 2008.

SCHAKER, P. D. C.; ANTONIOLLI, L. R. Aspectos econômicos e tecnológicos em pós-colheita de amoras-pretas (*Rubus* spp). **Revista Brasileira de Agrociência**, Pelotas, v. 15, n. 1/4, p. 11-15, Jan./dez. 2009.

STROHECKER, R. L.; HENNING, H. M. **Análisis de vitaminas**: métodos comprobados. Madri: Paz Montalvo, 1967. 428 p.

SUN, J. et al. Antioxidant and antiproliferative activities of common fruits. **Journal of Agriculture and Food Chemistry**, Easton, v. 50, n. 25, p. 7449-7454, Dec. 2002.

TAIZ, L.; ZEIGER, E. **Fisiologia vegetal**. 3. ed. Porto Alegre: Artemed, 2004. 719 p.

WALSH, C. S.; POPENOE, J.; SOLOMOS, T. Thornless blackberry is a climateric fruit. **HortScience**, Alexandria, v. 18, n. 3, p. 482-483, 1983.

WANG, S. Y.; LIN, H. S. Antioxidant activity in fruits and leaves of blackberry, raspberry, and strawberry varies with cultivar and developmental stage. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, Easton, v. 48, n. 2, p. 140-146, Feb. 2000.

WATERHOUSE, A. L. Determination of total phenolics. In: _____. **Current protocols in food analytical chemistry**. New York: Wiley, 2002. p. 11.1.1-11.1.8.

YEMM, E.; WILLIS, A. J. The estimation of carbohydrates in plant extracts by anthrona. **The Biochemical Journal**, London, v. 57, n. 3, p. 508-514, 1954.

CAPÍTULO 3

EFEITO DE DIFERENTES TEMPERATURAS NA QUALIDADE PÓS-COLHEITA DE AMORA-PRETA

RESUMO

Este trabalho foi realizado com o objetivo de avaliar a vida útil de amora-preta cultivar Tupy, armazenada em três temperaturas de armazenamento. Os frutos foram adquiridos na cidade de Itamonte, MG e acondicionados em embalagens de polietileno com tampa encaixável do mesmo polímero. As embalagens contendo cerca de 120 g de amora-preta foram armazenadas a $0\pm 1^{\circ}\text{C}$, $5\pm 1^{\circ}\text{C}$ e $8\pm 1^{\circ}\text{C}$ e $90\pm 5\%$ de umidade relativa, por 12 dias e as avaliações foram realizadas nos períodos de 0, 3, 5, 7, 9 e 12 dias de armazenamento, das seguintes variáveis: perda de massa fresca, sólidos solúveis, acidez titulável, pH, firmeza, porcentagem de solubilização, pectinametilesterase, poligalacturonase, polifenoxidase, peroxidase, fenilalanina amônia liase, vitamina C, compostos fenólicos totais, antocianinas e atividade antioxidante. O trabalho foi conduzido em delineamento inteiramente casualizado (DIC), em esquema fatorial 3×6 , em que o primeiro se refere a três temperaturas e o segundo, a seis tempos de armazenamento, respectivamente, contendo três repetições. Os resultados obtidos foram submetidos à análise de variância e as médias foram comparadas, pelo teste de Tukey, a 5% de probabilidade e análise de regressão. Frutos armazenados a 0°C preservaram a sua qualidade por 12 dias, mantendo a textura, menor atividade das enzimas pectinolíticas e do metabolismo fenilpropanoide, sendo esta temperatura ideal para o armazenamento e a conservação do produto.

Palavras-chave: *Rubus* spp. Conservação. Refrigeração. Compostos bioativos. Enzimas.

ABSTRACT

The objective of this study was to evaluate the shelf life of blackberries Tupy stored in three storage temperatures. The fruits were purchased in the city of Itamonte-MG and packaged in polyethylene snap cap with the same polymer. The packages containing approximately 120g of blackberries were stored at $0 \pm 1^\circ\text{C}$, $5 \pm 1^\circ\text{C}$ and $8 \pm 1^\circ\text{C}$ and $90\% \pm 5\%$ UR for 12 days and assessments were performed during periods of 0, 3, 5, 7, 9 and 12 days of storage, the following variables: weight loss, soluble solids, titratable acidity, pH, firmness, percentage of solubilization pectin polygalacturonase, polyphenoloxidase, peroxidase, phenylalanine ammonia lyase, vitamin C, total phenolic compounds, anthocyanins and antioxidant activity. The study was conducted in a completely randomized design (DIC) in a factorial 3×6 , and three temperatures and six times storage respectively, with three repetitions. The results were submitted to ANOVA and means were compared by Tukey test at 5% probability and regression analysis. Fruit stored at 0°C preserved their quality for 12 days, maintaining the texture, the lower activity of pectinolytic enzymes and phenylpropanoid metabolism, and better temperature for storage and preservation of the product.

Keywords - *Rubus* spp. Conservation. Refrigeration. Bioactive compounds. Enzymes.

1 INTRODUÇÃO

A amoreira-preta (*Rubus* sp.) é uma planta de hábito de crescimento arbustivo de porte ereto ou rasteiro, que produz frutos agregados com cerca de quatro a sete gramas, com sabor ácido a doce-ácido, de coloração negra. Apresenta baixo custo de produção, facilidade de manejo, requer pouca utilização de defensivos agrícolas, sendo, por isso, uma alternativa interessante para cultivo na agricultura familiar (ANTUNES et al., 2002).

A amora-preta *in natura* é altamente nutritiva, contendo cerca de 85% de água, 10% de carboidratos, com elevado conteúdo de minerais, vitaminas B, A e cálcio (ANTUNES; DUARTE FILHO; SOUZA, 2003). No entanto, é altamente perecível e a sua vida de prateleira é limitada, devido à perda de massa excessiva, além de alteração de textura e deterioração microbiológica, principalmente por *Botrytis cinerea*, *Rhizopus* e *Mucor* spp (BARTH et al., 1995).

A utilização de baixas temperaturas constitui o fator mais importante na redução da deterioração e na maximização da vida útil da amora-preta. De acordo com Filgueiras, Chitarra e Chitarra (1996), a refrigeração retarda os processos fisiológicos, como a respiração e a produção de calor vital, que levam à senescência das frutas. A redução da intensidade respiratória reduz as perdas de aroma, sabor, cor, textura e outros atributos de qualidade do produto armazenado.

Antunes, Duarte Filho e Souza, (2003) constataram que frutos das cultivares Brazos e Comanche puderam ser armazenados, por até nove dias, a 2 °C, quando acondicionados em bandejas de polietileno teraftalato transparente, envoltos por filme PVC (20 µm).

Contudo, as diferenças quanto ao tempo de armazenamento de amoras-pretas estão intimamente relacionadas às cultivares, ao manejo pré-colheita e, ao estágio de maturação, dentre outros fatores.

Diante do exposto, este trabalho foi realizado com o objetivo de avaliar a vida útil de frutos de amora-preta cv. Tupy submetidos a diferentes temperaturas de armazenamento.

2 MATERIAL E MÉTODOS

2.1 Obenção dos frutos, montagem e condução do experimento

Os frutos utilizados neste experimento eram provenientes de plantio comercial, no município de Itamonte, MG. Utilizou-se a cultivar Tupy, sendo sua colheita realizada em novembro de 2010, no período da manhã, para minimizar perdas por transpiração, procedendo-se a colheita manual.

Os frutos foram colhidos, obedecendo à uniformidade de tamanho, cor e ausência de injúrias e armazenados em bandejas de polietileno com tampa do mesmo polímero. Os frutos foram transportados em caminhão refrigerado da cidade de procedência para o Laboratório de Pós-Colheita de Frutas e Hortaliças da Universidade Federal de Lavras (UFLA). As embalagens contendo os frutos foram distribuídas aleatoriamente em câmaras frias com temperatura de refrigeração de 0 ± 1 °C e $90\pm 5\%$ de umidade relativa, 5 ± 1 °C e $90\pm 5\%$ de umidade relativa e 8 ± 1 °C e $90\pm 5\%$ de umidade relativa.

2.2 Análises

As avaliações foram realizadas nos períodos de 0, 3, 5, 7, 9 e 12 dias de armazenamento, de acordo com a manutenção da qualidade dos frutos dentro de cada temperatura.

2.2.1 Perda de massa fresca (%)

Foi calculada por gravimetria, segundo a expressão

$$\% \text{ PM} = (MI - MF) 100/MI,$$

em que MI é a massa inicial e MF, a massa da amostra, no dia da avaliação.

2.2.2 Sólidos solúveis

Os sólidos solúveis foram determinados por refratometria, conforme as normas da AOAC (1998), utilizando-se refratômetro digital, homogeneizando-se as amostras e transferindo de uma ou duas gotas do material para o prisma do refratômetro. Os resultados foram expressos em °BRIX.

2.2.3 Acidez titulável e pH

A acidez titulável foi determinada por titulação com solução de hidróxido de sódio (NaOH) 0,01N, utilizando-se como indicador a fenolftaleína, de acordo com o Instituto Adolfo Lutz (1985). Os resultados foram expressos em porcentagem de ácido cítrico. Já o potencial hidrogeniônico foi determinado utilizando-se um pHmetro Schott Handylab, segundo técnica aconselhada pela AOAC (1998).

2.2.4 Firmeza

A firmeza de frutos inteiros foi obtida determinando-se dois pontos na região equatorial do fruto, com o auxílio de um texturômetro Stable Micro System, modelo TAXT2i, probe 2/N e os resultados foram expressos em Newtons (N).

2.2.5 Porcentagem de solubilização

As pectinas total e solúvel foram extraídas de acordo com a técnica de MCCready e MCComb (1952) e determinadas espectrofotometricamente a 520 nm, segundo técnica de Blumenkrantz e Asboe-Hansen (1973). Os resultados

foram expressos em mg de ácido galacturônico.100 g⁻¹ de polpa. O percentual de solubilização foi obtido pela razão pectina solúvel/pectina total.

2.2.6 Determinação de pectinametilesterase

A atividade enzimática foi determinada pela técnica descrita por Jen e Robinson (1984). O substrato utilizado foi a pectina cítrica a 1% em NaCl 0,1 Mol.L⁻¹, pH 7,0, à temperatura ambiente. A taxa de desmetilação da pectina, adicionada do extrato enzimático, foi medida pela titulação da mistura da reação com NaOH 0,01 Mol.L⁻¹, mantendo-se o pH 7,0 por 10 minutos. Uma unidade de atividade foi considerada como sendo a quantidade de enzima capaz de catalizar a desmetilação de pectina correspondente a um micromol de NaOH por minuto, nas condições do ensaio. Os resultados foram expressos em unidades por grama de peso fresco ($\mu\text{mol}^{-1}\text{g}^{-1}\text{min}$).

2.2.7 Determinação de poligalacturonase

A extração foi realizada de acordo com a metodologia de Buecher & Furmanski (1978). Amostras de 5g foram trituradas em politron com 50 mL de água destilada gelada, a 4°C. O homogenato resultante foi filtrado em papel de filtro. O resíduo foi lavado mais uma vez com água destilada e, em seguida, ressuspenso em NaCl 1,0 Mol.L⁻¹ e submetido à homogeneização por um minuto. O pH foi ajustado para 6 com NaOH e o novo homogenato foi incubado a 4°C, por uma hora. Depois de incubado, o volume foi completado para 30mL com NaCl 1,0 Mol.L⁻¹ e filtrado com papel de filtro. O sobrenadante constituiu a fonte enzimática. A determinação da atividade enzimática foi realizada segundo Pressey & Avants (1973). O extrato foi incubado com ácido galacturônico 0,25% em tampão acetato de sódio 37,5mM pH 5,0, a 30 °C, por 3 horas. A

reação foi interrompida em banho-maria fervente e os grupos redutores liberados determinados pela técnica Somoghy, modificada por Nelson (1944), utilizando-se ácido galacturônico como padrão. Os resultados foram expressos em unidades de atividade de poligalacturonase por minuto ($\mu\text{mol}^{-1}\text{g}^{-1}\text{min}$).

2.2.8 Peroxidase (POD) (1.11.1.7)

A extração e a determinação da atividade da peroxidase foi realizada de acordo com o método proposto por Matsumo e Uritane (1972). A atividade foi expressa em unidade por minuto por grama de tecido fresco ($\text{U min}^{-1} \text{g}^{-1}$), segundo o método de Teisson (1979).

2.2.9 Polifenoloxidase (PPO) (1.14.18.1)

A extração e a determinação da atividade da polifenoloxidase foi realizada de acordo com o método proposto por Matsumo e Uritane (1972). A atividade foi expressa em unidade por minuto por grama de tecido fresco ($\text{U min}^{-1} \text{g}^{-1}$), segundo o método de Teisson (1979).

2.2.10 Fenilalanina amônia-liase (PAL) (4.3.1.24)

Foi realizada com base na técnica preconizada por Rhodes e Woollorton (1971). A atividade enzimática foi expressa em $\text{U min}^{-1} \text{g}^{-1}$, definida como conteúdo de enzima que produz um aumento na absorbância a 290 nm de 0,01 por minuto (ZUCKER, 1965)

2.2.11 Vitamina C

O teor de ácido ascórbico foi determinado pelo método colorimétrico, utilizando-se 2,4 dinitrofenil-hidrazina, segundo Strohecker e Henning (1967). A leitura foi realizada em espectrofotômetro Beckman 640 B, com sistema computadorizado, e os resultados foram expressos em mg de ácido ascórbico por 100g⁻¹ de polpa.

2.2.12 Antocianinas totais (AT)

O conteúdo de antocianinas totais foi determinado pelo método da diferença de pH (GIUSTI; WROSLTAD, 2001), em que se dissolvem em dois sistemas-tampão: cloreto de potássio pH 1,0 (0,025M) e acetato de sódio pH 4,5 (0,4M). Foram adicionados 2,5 mL da correspondente dissolução tampão pH=1,0 a 1,5mL da amostra de vinho e 2,5 mL da dissolução tampão pH=4,5 a 1,5 mL da amostra de vinho e as leituras das absorvâncias foram realizadas a 510 e 700 nm.

A absorvância foi calculada a partir da equação

$$A = (A_{510nm} - A_{700nm})pH_{1,0} - (A_{500nm} - A_{700nm})pH_{4,5}$$

A concentração de pigmentos no extrato foi calculada e representada em cianidina-3-glicosídeo.

$$\text{Antocianinas (mg.l}^{-1}\text{)} = (A \times PM \times FD \times 1000) / (\varepsilon \times l)$$

em que A = absorvância; MM = massa molecular; FD = fator de diluição e ε = absorvidade molar.

2.2.13 Compostos fenólicos totais

Para a obtenção do extrato, seguiu-se o mesmo procedimento utilizado para a atividade antioxidante. A determinação do teor de fenólicos totais foi feita pelo método proposto por Waterhouse (2002), empregando-se o reagente de Folin-Ciocalteu. Em resumo, 0,5 mL de extrato de cada amostra foram adicionados aos tubos contendo 2,5 mL de solução de Folin-Ciocalteu 10%. Em seguida, foram adicionados 2 mL de solução de carbonato de sódio 4%. Os tubos foram agitados e deixados em repouso por 2 horas, ao abrigo da luz. A cor azul produzida pela redução do reagente Folin-Ciocalteu pelos fenólicos foi medida espectrofotometricamente, na faixa de absorção de 750 nm. O cálculo do teor de fenólicos foi realizado a partir da equação da reta obtida da curva padrão do ácido gálico. Os resultados foram expressos em mg de equivalentes de ácido gálico por 100 g da amostra ($\text{mg EAG} \cdot 100\text{g}^{-1}$).

2.2.14 Atividade antioxidante total DPPH

Para a obtenção do extrato, foram pesados 2 g das amostras, às quais foram adicionadas 20 mL de álcool metílico 50%. Essa mistura foi homogeneizada e deixada em repouso por 1 hora, à temperatura ambiente. Após este período, a mistura foi centrifugada, a 14.000 rpm, por 15 minutos. O sobrenadante foi coletado e foram adicionados 20 mL de acetona 70% ao resíduo, que foi homogeneizado e deixado em repouso por 1 hora, à temperatura ambiente. Em seguida, centrifugou-se a 14.000 rpm, por 15 minutos. O sobrenadante foi coletado, adicionado ao primeiro sobrenadante e o volume foi completado para 50 mL com água destilada.

A metodologia empregada na determinação da atividade antioxidante foi baseada na extinção da absorção do radical 2,2-difenil-1-picril hidrazil (DPPH

60 μM), proposta por Rufino et al. (2009), com algumas adaptações em relação ao cálculo, calculando-se o percentual de sequestro do radical DPPH a partir do padrão.

Adicionou-se 0,1 mL de cada extrato das amostras a 3,9 mL de solução de DPPH. Para o controle, foram adicionados 0,1 mL de metanol, juntamente ao DPPH, no lugar do extrato. As leituras foram realizadas após 120 minutos, em espectrofotômetro, a 515 nm e os resultados foram expressos em percentual de sequestro de radical livre (%SRL), conforme equação a seguir:

$$\%SRL = (Ac - Am) \times 100 / Ac$$

em que Ac = absorvância do controle; Am = absorvância da amostra

2.2.15 Análises estatísticas

A análise estatística das variáveis avaliadas foi realizada utilizando-se do software R. Realizou-se a análise de variância por meio do teste F, para verificar a diferença entre os tratamentos. As médias dos tratamentos, quando significativas, foram comparadas, pelo teste de Tukey, a 5% de probabilidade. Quando encontrada diferença significativa na interação entre os fatores, foi feita a análise de regressão.

2.3 Delineamento experimental

O trabalho foi conduzido em delineamento inteiramente casualizado (DIC). Os tratamentos foram dispostos em fatorial 3x6, sendo constituído por 3 tratamentos (temperaturas de 0 °C, 5 °C e 8 °C) e seis tempos de armazenamento (0, 3, 5, 7, 9 e 12 dias), contendo três repetições. Cada unidade experimental foi constituída, em média, por 120 g de frutos.

3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

Cada temperatura proporcionou um período distinto de armazenamento, baseado no fruto apto para o consumo. À temperatura de 0 °C, os frutos puderam ser avaliados até o décimo segundo dia, no armazenamento a 5°C até o sétimo dia e à temperatura de 8 °C até o quinto dia de armazenamento.

3.1 Perda de massa

A perda de massa foi influenciada significativamente pela interação temperatura e tempo de armazenamento ($p < 0,05$) (Gráfico 1). Houve um aumento da perda de massa no decorrer dos dias, sendo que, quanto maior a temperatura de armazenamento empregada, maior perda de massa os frutos apresentaram. Frutos armazenados a 8 °C apresentaram perda de massa mais acentuada que os frutos armazenados a 5 e a 0 °C.

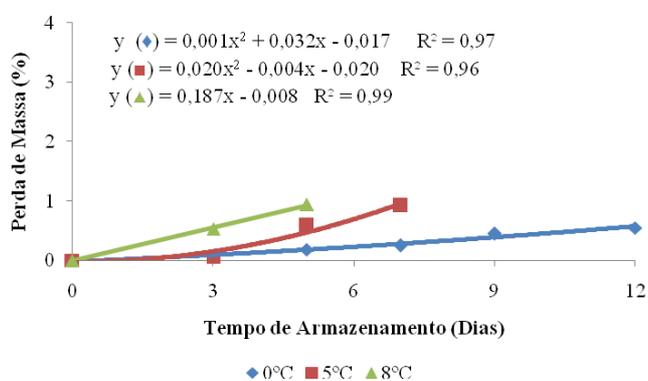


Gráfico 1 Equação de regressão e coeficiente de determinação de perda de massa de amoras-pretas armazenadas em diferentes temperaturas de refrigeração.

A perda de massa fresca em frutos armazenados ocorre em decorrência da água eliminada por transpiração causada pela diferença de pressão de vapor entre o fruto e o ar no ambiente (FERREIRA; ROSSO; MERCADANTE, 2010), sofrendo a influência de inúmeros fatores, como cultivar, tratamentos pós-colheita, condições ambiente e duração do armazenamento.

Perkins-Veazie e Clark (1996), ao avaliarem a perda de massa de amora-preta das cultivares Choctaw, Cheyenne, Navaho e Shawnee, encontraram valores variando de 0,8% a 3,3%, após sete dias de armazenamento a 2 °C, sendo influenciada pela cultivar e a coloração apresentada pelos frutos no momento da colheita.

3.2 Acidez titulável, pH e sólidos solúveis totais

Os valores de acidez titulável foram influenciados apenas pelos dias de armazenamento ($p < 0,05$). Observou-se um leve declínio dos valores de acidez até o sétimo dia de armazenamento e uma tendência à estabilização a partir daí (Gráfico 2).

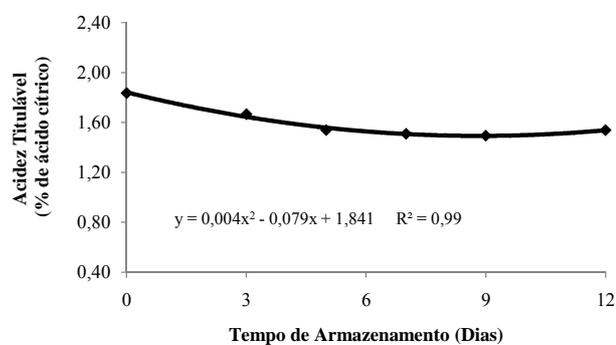


Gráfico 2 Equação de regressão e coeficiente de determinação de acidez titulável de amoras-pretas armazenadas em diferentes temperaturas de refrigeração.

Os valores de pH foram influenciados apenas pela temperatura de armazenamento ($p < 0,05$). Frutos armazenados a 0 °C apresentaram média de pH de 3,11, sendo estatisticamente semelhante aos frutos armazenados a 8 °C (3,09). No entanto, frutos armazenados a 5 °C apresentaram valores significativamente distintos (3,15).

Tabela 1 Teor médio da variável pH de amora-preta armazenada em diferentes temperaturas (0 °C, 5 °C e 8 °C)

Temperatura (°C)	Dias de Armazenamento					
	0	3	5	7	9	12
0	3,12 b	3,1 b	3,13b	3,11b	3,09b	3,1b
5	3,12 b	3,13 b	3,16a	3,18a	-	-
8	3,12 b	3,05 b	3,10b	-	-	-

As médias seguidas pela mesma letra, na coluna, não diferem entre si, pelo teste de Tukey, a 5% de significância

De acordo com Brody (1996), o teor de ácidos orgânicos tende a diminuir durante o processo de oxidação dos ácidos no ciclo dos ácidos tricarbônicos, em decorrência do processo de respiração.

Antunes, Gonçalves e Trevisan (2003) também observaram redução na acidez titulável de amoras-pretas cultivares Brazos e Comanche, no entanto, não observaram alterações significativas de pH em frutos armazenados a 20 °C, ao longo dos dias de armazenamento.

Perkins-Veazie e Collins (2002) constataram redução de acidez total e aumento de pH em amoras-pretas ‘Navaho’ e ‘Arapaho’, após 14 dias de armazenamento a 2 °C.

Os valores de sólidos solúveis totais foram influenciados pela interação temperatura e dias de armazenamento ($p < 0,05$). Constata-se que ocorreu redução dos valores de sólidos solúveis ao longo de sua conservação (Gráfico 3), redução esta maior em frutos armazenados a 8 °C e a 5 °C, quando comparada à dos frutos armazenados a 0 °C (Gráfico 3). Frutos armazenados a 0 °C apresentaram oscilação discreta no teor de sólidos solúveis.

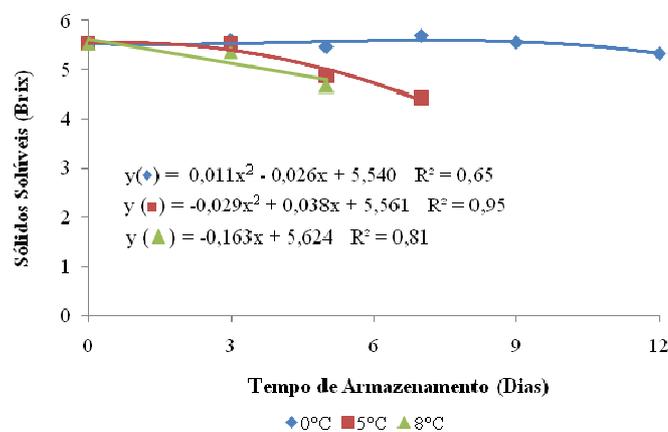


Gráfico 3 Equação de regressão e coeficiente de determinação de sólidos solúveis de amoras-pretas armazenadas em diferentes temperaturas de refrigeração.

De acordo com Filgueiras, Chitarra e Chitarra (1996), uma redução nos teores de sólidos solúveis pode estar relacionada com o consumo de açúcares no processo respiratório.

Antunes, Gonçalves e Trevisan (2003) constataram redução dos teores de sólidos solúveis para frutos das cultivares Brazos e Comanche, durante armazenamento a 20 °C.

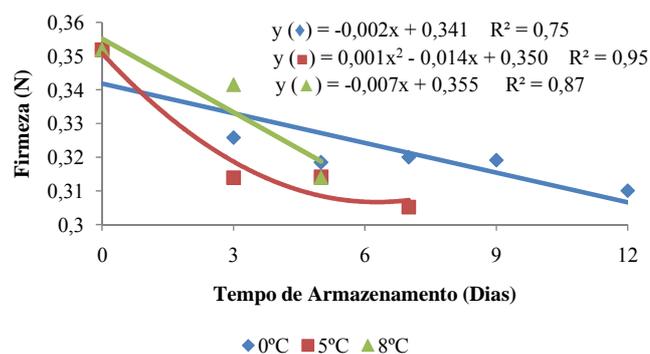
Walsh et al. (1983) também verificaram, em frutos de amoreira-preta ('Dirksen thornless', 'Smoothstem' e 'Hull thornless'), decréscimo significativo de sólidos solúveis totais, depois de sete dias de armazenamento a 25°C.

3.3 Qualidade textural

Houve interação significativa entre os fatores temperatura e tempo de armazenamento, para as variáveis firmeza e porcentagem de solubilização ($p < 0,05$) (Gráficos 4 A e B). A firmeza da polpa caracterizou-se pelo decréscimo gradual e significativo ao longo dos dias de armazenamento, em todas as temperaturas avaliadas. Frutos armazenados a 5 °C apresentaram redução mais acentuada na firmeza de sua polpa. Houve um aumento na porcentagem de solubilização dos frutos no decorrer do armazenamento.

A textura do fruto, apesar de ser um parâmetro físico, está estreitamente relacionada com a solubilização de substâncias pécticas. Frutos com elevada porcentagem de pectina solúvel são, geralmente, de textura fraca e pouco resistentes ao transporte e ao armazenamento (CARVALHO, 1994).

A



B

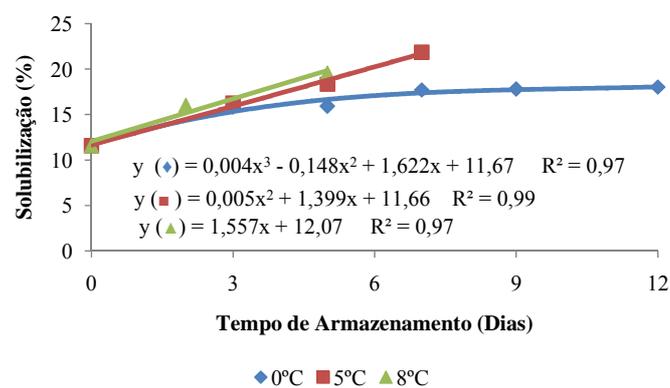


Gráfico 4 Equação de regressão e coeficiente de determinação de firmeza (A) e porcentagem de solubilização (B) de amoras-pretas armazenadas em diferentes temperaturas de refrigeração.

A tendência geral dos frutos durante a pós-colheita é um declínio na firmeza condicionada por diversos fatores, sendo atribuído, principalmente, à hidrólise de polissacarídeos da parede celular e à degradação enzimática de compostos pécticos da lamela média (SALUNKE; DESAI, 1984).

No entanto, a redução da temperatura diminui a atividade respiratória dos frutos (BEHSING et al., 1996), reduzindo a perda de firmeza (MERINO; URIARTE, 1989), durante o armazenamento.

Ao avaliar o conteúdo pectínico de amoras armazenadas sob temperatura ambiente e temperatura de refrigeração, Antunes et al. (2006) observaram que, apesar da elevação no teor de pectina solúvel nos frutos mantidos sob refrigeração, não houve degradação aparente da parede e extravasamento do suco celular enquanto, sob condição de temperatura ambiente, observaram perda drástica da textura e extravasamento do suco, restringindo a vida útil dos frutos à metade daquela observada quando mantidos sob refrigeração.

Gross e Wallner (1979) relataram que, na maioria dos frutos, a fração solúvel das substâncias pécticas aumenta durante o amadurecimento, num processo atribuído à ação de enzimas pectinolíticas.

Dois principais enzimas estão envolvidas no processo de amaciamento dos frutos, a poligalacturonase (PG) e a pectinametilesterase (PME) (ANTHON et al., 2002).

A pectinametilesterase e a poligalacturonase foram influenciadas significativamente pela interação temperatura e tempo de armazenamento (Gráfico 5). Frutos armazenados a 8 °C apresentaram maior atividade da enzima PME. Os frutos armazenados a 5 °C e a 0°C apresentaram ligeira oscilação dos valores de PME, no decorrer do armazenamento.

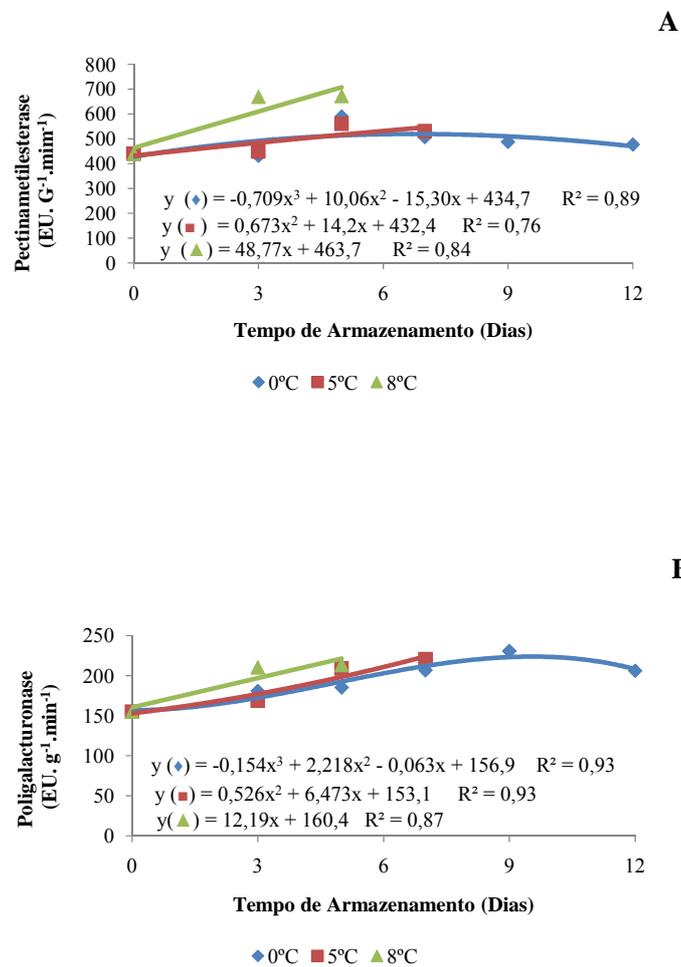


Gráfico 5 Equação de regressão e coeficiente de determinação de pectinametilesterase (5A) e poligalacturonase (5B) de amoras-pretas armazenadas em diferentes temperaturas de refrigeração.

Antunes, Gonçalves e Trevisan (2003), ao avaliarem a atividade enzimática de amoras das cultivares Comanche e Brazos, observaram maior atividade da PME no final do período de armazenamento à temperatura ambiente.

Para a poligalacturonase, os frutos armazenados a 0 °C apresentaram um aumento até o nono dia, seguido por um suave decréscimo, no final do armazenamento. Os frutos armazenados a 5 °C e a 8 °C apresentaram elevação crescente da atividade de PG durante todo o armazenamento (Gráfico 5B).

Avaliando a influência da temperatura de armazenamento na atividade enzimática da poligalacturonase, Antunes, Gonçalves e Trevisan (2003) observaram que, nos frutos armazenados a 2 °C, houve um acréscimo da sua atividade até o sexto dia, decrescendo a partir daí até o décimo segundo dia. Já nos frutos armazenados à temperatura ambiente, essa redução ocorreu a partir do terceiro dia de avaliação (ANTUNES; GONÇALVES; TREVISAN, 2003).

A menor atividade enzimática da PME promove a manutenção do grau de esterificação, dificultando a desmetilação do polímero péctico. Consequentemente, reduz a ação subsequente da poligalacturonase, refletindo no controle da degradação das substâncias pécticas, por conseguinte, da solubilização de pectinas e da contenção do amaciamento da polpa das amoras.

3.4 Perfil enzimático do metabolismo fenilpropanoide

As enzimas peroxidase (EC 1.11.1.7), polifenoloxidase (EC 1.14.18.1) e fenilalanina amônia-liase (EC 4.3.1.24) foram influenciadas significativamente pelos fatores temperatura e tempo de armazenamento.

Frutos armazenados a 8 °C apresentaram maior e crescente atividade de peroxidase, quando comparada aos frutos armazenados a 0 °C e a 5°C (Gráfico 6).

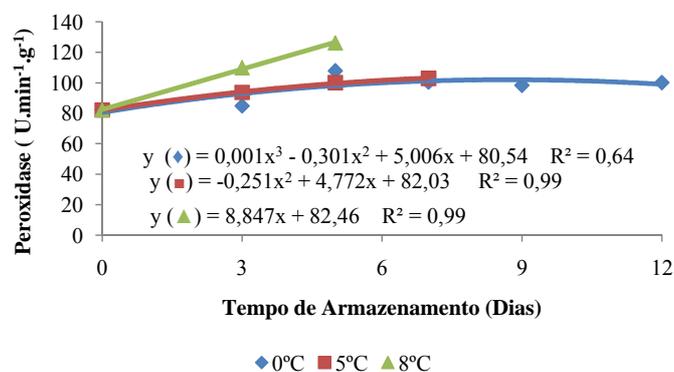


Gráfico 6 Equação de regressão e coeficiente de determinação de peroxidase de amoras-pretas armazenadas a diferentes temperaturas de refrigeração.

Um aumento mais acentuado da atividade da peroxidase dos frutos armazenados à temperatura de 8 °C pode ser um indicativo de maior dano ao tecido deste fruto, visto que a peroxidase é considerada uma enzima de estresse. Em condições em que há um aumento na formação de espécies reativas de oxigênio, a enzima aumenta a atividade para reduzir os danos causados por essas espécies reativas de oxigênio, removendo átomos de hidrogênio dos grupos alcoóis, combinando-os com peróxido de hidrogênio para formar moléculas de água, protegendo os tecidos (SALISBURY; ROSSI, 1991).

A polifenoloxidase apresentou comportamento bem semelhante ao descrito para a peroxidase, visto que os frutos armazenados a 8 °C apresentaram maior atividade enzimática, seguido pelos frutos armazenados a 5 °C e, por fim, pelos frutos armazenados a 0 °C. Observou-se aumento da atividade da polifenoloxidase ao longo dos dias de armazenamento, nas três temperaturas avaliadas (Gráfico 7).

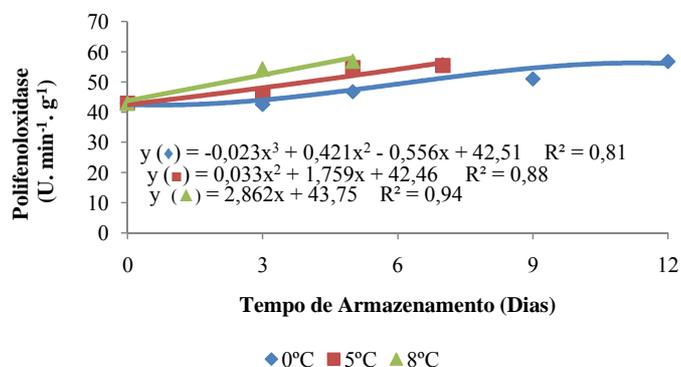


Gráfico 7 Equação de regressão e coeficiente de determinação de polifenoloxidase de amoras-pretas armazenadas a diferentes temperaturas de refrigeração.

De acordo com Arruda (2002), a baixa temperatura de armazenamento reduz a atividade das enzimas responsáveis pelo escurecimento enzimático (peroxidase e polifenoloxidase). Cenci (1994) afirma que o aumento na atividade da PPO e POD durante o armazenamento pode estar associado à senescência dos tecidos.

Huang et al. (1990) constataram que a atividade da peroxidase de lichia aumentou durante os primeiros 15 dias de armazenamento, enquanto a atividade da polifenoloxidase foi baixa na colheita e manteve-se baixa para os primeiros 29 dias de armazenamento.

A atividade enzimática da fenilalanina amônia-liase foi maior nos frutos armazenados a 8 °C e a 5 °C, observando-se um aumento nos teores ao longo do armazenamento. Já nos frutos armazenados a 0 °C, observa-se que houve um aumento até o sétimo dia, seguido por um decréscimo dos valores até o fim do armazenamento (Gráfico 8).

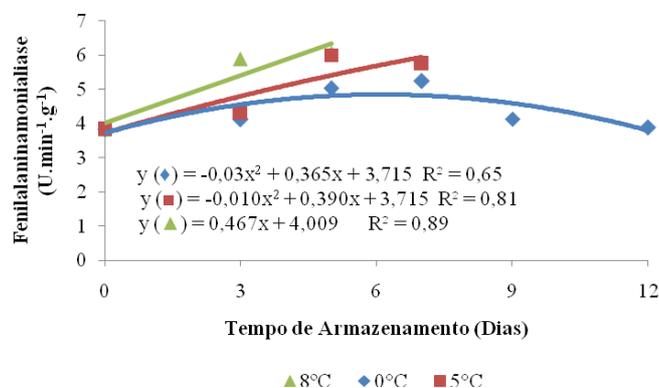


Gráfico 8 Equação de regressão e coeficiente de determinação de fenilalanina amônia-liase de amoras-pretas armazenadas a diferentes temperaturas de refrigeração.

A fenilalanina amônia-liase exerce papel chave na biossíntese de fenilpropanoides, sendo sua atividade afetada por fatores como luz, temperatura, reguladores de crescimento, inibidores da síntese de RNA, proteína, infecção, ferimentos e nutrição mineral (JONES, 1984).

No entanto, observou-se redução nos valores da enzima fenilalanina amônia-liase aos sete dias de armazenamento dos frutos armazenados a 0°C, fato que pode estar associado à menor disponibilidade de oxigênio e maior concentração de dióxido de carbono criada pela atmosfera modificada às quais os frutos foram armazenados, visto que estes fatores reduzem a atividade dessa enzima (CHITARRA; CHITARRA, 2005).

Tem sido observado que, em muitos tecidos vegetais, os teores da FAL e de compostos fenólicos aumentam concomitantemente. No entanto, Peng, Scalbert e Monties (1991) relatam que aumentos na atividade da fenilalanina amônia-liase não se relacionam, necessariamente, com aumentos nos níveis de compostos fenólicos se outros fatores, como a disponibilidade de fenilalanina, forem limitantes para o processo.

3.5 Compostos bioativos

Os teores de fenólicos totais foram influenciados pela interação temperatura e tempo de armazenamento. Frutos armazenados a 8 °C apresentaram produção mais acentuada de compostos fenólicos, quando comparados aos frutos armazenados a 0 °C. Frutos armazenados a 5 °C apresentaram elevação na produção de compostos fenólicos até o quinto dia de armazenamento, com posterior redução. Os frutos armazenados a 0 °C elevaram seus teores até o nono dia de armazenamento, reduzindo-se a partir daí, até o final do armazenamento (Gráfico 9).

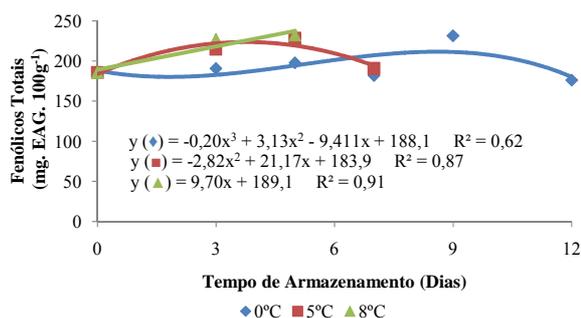


Gráfico 9 Equação de regressão e coeficiente de determinação de fenólicos totais de amoras-pretas armazenadas a diferentes temperaturas de refrigeração.

A composição fenólica dos frutos é determinada por fatores genéticos e ambientais, mas pode ser modificada por reações oxidativas que ocorrem durante a pós-colheita, resultado do armazenamento (TOMÁZ-BARBERÁN; ESPÍN, 2001).

O aumento da concentração de compostos fenólicos durante o armazenamento pode ser devido ao fato de baixas temperaturas estimularem a

atividade da enzima FAL, que elimina uma molécula de amônia da fenilalanina para formar o ácido cinâmico, acarretando a formação de compostos fenólicos.

Ao avaliar o conteúdo de compostos fenólicos com relação ao ambiente de armazenamento, Antunes, Gonçalves e Trevisan (2003) observaram que, em temperatura ambiente, houve um incremento nos teores de compostos fenólicos totais das amoras até o sexto dia, decrescendo a partir daí, até o décimo segundo dia, atingindo $370,63 \text{ mg } 100\text{g}^{-1}$. Já em ambiente refrigerado, houve um ligeiro incremento até o nono dia, atingindo $467,86 \text{ mg.}100\text{g}^{-1}$, havendo, posteriormente, um pequeno decréscimo de $12 \text{ mg.}100\text{g}^{-1}$ até o décimo segundo dia, corroborando os dados do presente estudo.

Estes autores atribuíram o aumento inicial da concentração de compostos fenólicos totais à perda de massa das frutas, concentrando estas substâncias (ANTUNES; GONÇALVES ; TREVISAN., 2003), enquanto a redução destes compostos pode ser devido aos processos de complexação e polimerização dos taninos (MENEZES, 1994).

Os fatores tempo de armazenamento e temperatura influenciaram significativamente os teores de antocianinas totais. Observou-se um aumento da concentração das antocianinas totais dos frutos armazenados a 8°C e a 5°C até o quinto dia de armazenamento, seguido por um ligeiro declínio para estes últimos até o fim do armazenamento. Já para os frutos armazenados a 0°C , observou-se uma elevação discreta dos valores ao longo do armazenamento (Gráfico 10).

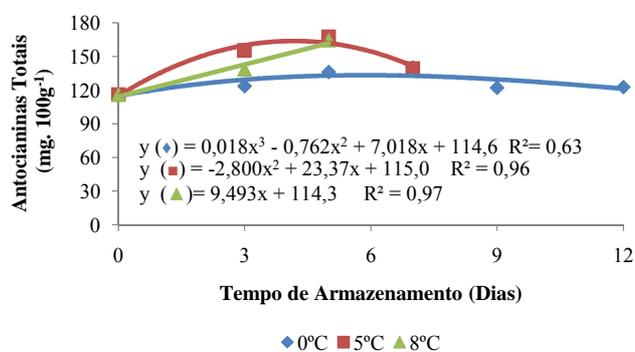


Gráfico 10 Equação de regressão e coeficiente de determinação de antocianinas totais de amoras-pretas armazenadas em diferentes temperaturas de refrigeração.

Alguns autores consideram que a via biossintética das antocianinas se mantém operativa mesmo a baixas temperaturas (HOLKROFT; KADER, 1999), fomentando um aumento contínuo de antocianinas durante o período de armazenamento (GIL et al., 1997).

Nunes et al. (1995) obtiveram diminuição de 43% no conteúdo de antocianinas de morangos não embalados armazenados a 1 °C, durante 8 dias. Sistrunk e Morris (1978) relataram também diminuição do conteúdo de antocianinas em morangos, dependente da temperatura e do tempo de armazenamento.

Diversos fatores estão relacionados à diferença quanto ao conteúdo de antocianinas totais, entre eles a ação enzimática na pós-colheita, principalmente devido a processos oxidativos das polifenoloxidasas, cujo principal substrato é a cianidina-3-glicosídeo (BEATTIE; CROZIER; DUTHIE, 2005).

Hassimotto et al. (2008) encontraram para a cultivar Tupy o valor de $116,0 \pm 2,0$ mg cianidina 3-glucosídeo/100 g⁻¹ de fruto. No entanto, Jaques et al.

(2009), ao avaliarem frutos da mesma cultivar, encontraram teores de antocianinas totais na faixa de 140,73 mg cianidina-3-glicosídeo.100g⁻¹ fruta.

Os teores de vitamina C foram influenciados significativamente pela interação dos fatores tempo e temperatura de armazenamento. Observou-se que os frutos armazenados a 0 °C apresentaram maior conteúdo de vitamina C e estes mostraram pequena oscilação durante o armazenamento. Para os frutos armazenados a 5 °C e a 8 °C, houve redução no conteúdo de vitamina C, a partir do terceiro dia de armazenamento (Gráfico 11).

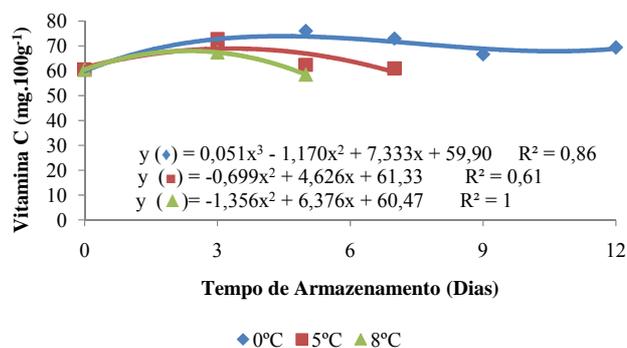


Gráfico 11 Equação de regressão e coeficiente de determinação de vitamina C de amoras-pretas armazenadas em diferentes temperaturas de refrigeração.

Ao avaliar o armazenamento de amora-preta, Antunes, Gonçalves e Trevisan (2003) observaram que o armazenamento a 20°C promoveu um acréscimo no conteúdo de vitamina C total até o sexto dia, decrescendo a partir de então. No décimo segundo dia, estas amoras apresentaram conteúdo 51,1% inferior ao encontrado nos frutos conservados a 2 °C. Os mesmos autores observaram que, a 2 °C, não ocorreu redução no conteúdo de vitamina C após o

sexto dia e atribuíram este fato a uma redução nas reações oxidativas e ao retardo dos processos fisiológicos nos frutos armazenados sob refrigeração.

De acordo com Clemente (1994), a peroxidase pode catalisar a oxidação de vitaminas, tais como a vitamina C, o que pode contribuir para a sua redução.

A porcentagem de sequestro de radical livre avaliada mediante a utilização do radical livre DPPH• foi influenciada pela interação temperatura e tempo de armazenamento. Observou-se aumento da atividade sequestrante de radical livre dos frutos armazenados a 5 °C e a 8 °C até o terceiro dia de armazenamento, decaindo a partir daí, até o final do armazenamento. Para os frutos armazenados a 0 °C, observou-se que houve um aumento até o terceiro dia, seguido por uma tendência a estabilização dos valores até o final do armazenamento (Gráfico 12).

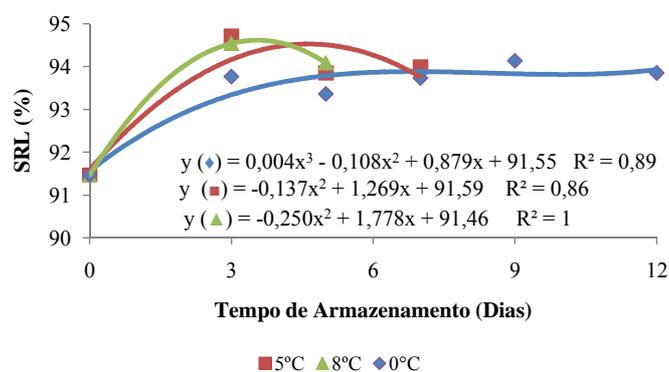


Gráfico 12 Equação de regressão e coeficiente de determinação de porcentagem de sequestro de radical livre de amoras-pretas armazenadas em diferentes temperaturas de refrigeração.

O aumento da atividade sequestrante de radicais livres das amoras na diferentes temperaturas de armazenamento pode ser decorrente do aumento no conteúdo de fenólicos totais, em especial das antocianinas, visto que, de acordo

com Hirsch (2011), as correlações encontradas entre compostos bioativos de amora-preta e atividade antioxidante dos extratos fenólicos revelaram que as antocianinas foram as grandes responsáveis pela atividade antioxidante, utilizando-se a metodologia do FRAP e DPPH•. No entanto, o potencial antioxidante das antocianinas é afetado por diferenças nas suas características estruturais (ZHENG; WANG, 2003).

De acordo com Wang et al. (2008), a cianidina-3-glicosídeo é a antocianina majoritária da amora-preta e é responsável pela atividade antioxidante nesta fruta.

Hassimotto et al. (2008) observaram correlação linear entre os teores de cianidina e capacidade antioxidante, em cinco cultivares de amora.

As antocianinas têm papel fundamental como antioxidantes naturais na amora-preta, representando em torno de 65% da atividade antirradical livre dos compostos fenólicos totais (FERREIRA; ROSSO; MERCADANTE, 2010).

4 CONCLUSÕES

A temperatura de 0 °C é a mais adequada para a conservação da amora-preta cv. Tupy, por preservar a qualidade dos frutos por 12 dias, mantendo a textura e menor atividade das enzimas pectinolíticas e do metabolismo fenilpropanoide.

Frutos armazenados a 5 °C apresentaram viáveis para o consumo até o sétimo dia de armazenamento.

O armazenamento a 8 °C restringiu a vida útil da amora-preta cv. Tupy a cinco dias de armazenamento, por não conseguir retardar as modificações naturais que acontecem no fruto, promovendo também acentuada perda de massa, redução de firmeza e declínio nos teores de vitamina C.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ANTHON, G.E. et al. Thermal inactivation of pectin methylesterase, polygalacturonase, and peroxidase in tomato juice. **Journal of Agriculture and Food Chemistry**, v. 50, n. 21, p.6153-6159, Oct. 2002.
- ANTUNES, L. E .C. Amora-preta: Nova opção de cultivo no Brasil. **Ciência Rural**, Santa Maria, v. 32, n. 1, p. 151-158, Feb. 2002.
- ANTUNES, L.E.C.; GONÇALVES, E.D ; TREVISAN, R. Alterações de compostos fenólicos e pectina em pós-colheita de frutos de amora-preta. **Revista Brasileira de Agrociência**, Pelotas, v.12, n.1, p.57-61, Jan./Mar. 2006.
- ANTUNES, L.E.C.; FILHO, J.D.; SOUZA, C.M. Conservação pós-colheita de frutos de amoreira-preta. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 38, n. 3, p. 413-419, Mar. 2003.
- ARRUDA, M.C.de. **Processamento mínimo de melão rendilhado: tipo de corte, temperatura de armazenamento e atmosfera modificada**. Piracicaba: ESALq. (Dissertação de Mestrado em Agronomia). 2002, 71p.
- ASSOCIATION OF OFFICIAL AGRICULTURAL CHEMISTS. **Official methods of the Association of the Agricultura Chemists**. Washington, 1998. 1094 p.
- BARTH, M. M. et al. Ozone storage effects on anthocyanin content and fungal growth in blackberries. **Journal of Food Science**, Chicago, v. 60, n. 6, p. 1286-1288, Nov. 1995.
- BEATTIE, J.; CROZIER, A.; DUTHIE, G.G. Potential health benefits of berries. **Current Nutrition & Food Science**, v.1, n.1, p. 71-86, Jan. 2005.
- BEHRSING, J.P. et al. Effect of temperature and size reduction on respiratory activity and shelf-life of vegetables. In: INTERNATIONAL POSTHARVEST SCINCE CONFERENCE, 1996, Taupo. Abstracts... Taupo : ISHS, 1996. 544p.
- BRODY, A. L. **Envasado de alimentos em atmosferas controladas, modificadas y vazio**. Zaragoza: Acribia, 1996. 220 p.

BUESCHER, R. W.; FURMANSKI, R. J. Role of pectinesterase and polygalacturonase in the formation of woolliness um peaches. **Journal of Food Science**, Chicago, v. 43, n. 1, p. 264-266, Jan./Feb. 1978.

CARVALHO, V. D. de. Qualidade e conservação pós-colheita de goiabas. **Informe Agropecuário**, Belo Horizonte, v. 17, n. 179, p. 48-54, 1994.

CENCI, S. A. **Ácido naftalenoacético (ANA) e cloreto de cálcio na pré-colheita de uva niágara rosada (Vitis labrusca L.X Vitis vinifera L.) avaliação do potencial de conservação no armazenamento** Pós Lavras, 1994, 109 p. Tese (Doutorado em Ciência dos Alimentos), Escola Superior de Agricultura de Lavras.

CHIM, J. F. **Caracterização de compostos bioativos em amora-preta (Rubus sp.) e sua estabilidade no processo e armazenamento de geléias convencional e light**. 2008. 87p. Tese (Doutorado em Ciência e Tecnologia Agroindustrial) – Universidade Federal de Pelotas, Pelotas-RS.

CHITARRA, M. I. F. E CHITARRA, A. B. **Pós-colheita de frutos e hortaliças: Fisiologia e manuseio**. 2.Ed. UFLA, 2005. 785p.

CLEMENTE, E. . **The characterisation of peroxidase from oranges**. Leeds, 1993, 202p. PhD Tesis (Procter Department of Food Science), University of Leeds.

FERREIRA, D.S.; ROSSO, V.V.; MERCADANTE, A.Z. Compostos bioativos presentes em amora-preta (Rubus spp.). **Revista Brasileira Fruticultura**, Jaboticabal - SP, v. 32, n. 3, p. 664-674, Set. 2010.

FILGUEIRAS, H. A. C.; CHITARRA, M. I. F.; CHITARRA, A. B. Armazenamento de ameixas sob refrigeração e atmosfera modificada - 2: colapso interno (internal breakdown) e textura. **Revista Brasileira de Fruticultura**, Cruz das Almas, v. 18, n. 1, p. 129-135, Jul. 1996.

GIL, M.I.; HOLCROFT, D.M.; KADER, A.A. Changes in strawberry anthocyanins and other polyphenols in response to carbon dioxide treatments. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 45, n. 5, p. 1662-1667, May, 1997.

GIUSTI, M.M.; WROLSTAD, R.E. Characterization and measurement of anthocyanins by UV-visible spectroscopy. In: WROLSTAD, R.E. **Current protocols in food analytical chemistry**. New York: John Wiley & Sons, 2001.

GROSS, K. C.; WALLNER, S. J. Degradation of cell wall polyssaccharides during tomato druit ripening. **Plant Physiology**, Baltimore, v. 63, n. 1, p. 117-120, Jul. 1979.

HARDENBURG, R. E.; WATADA, A. E.; WANG, C. Y. **The commercial storage of fruits, vegetables, and florist and nursery stocks**. California:USDA Agricultural Research Serial, 1986. 130p. (Handbook, 66).

HIRSCH, G.E. **Valor nutricional e capacidade antioxidante de diferentes genótipos de amora-preta (*Rubus sp.*)**. 2011. 100p. Dissertação (Mestrado em Ciência e Tecnologia de Alimentos). Universidade Federal de Santa Maria (UFSM, RS).

HASSIMOTTO, N. M. A. et al. Physico-chemical characterization and bioactive compounds of blackberry fruits (*Rubus sp.*) grown in Brazil. **Ciência e Tecnologia dos Alimentos**, v. 28, n. 3, p. 702-708, Jul./Sept. 2008.

HOLCROFT, D.M.; KADER, A.A. Controlled atmosphere-induced changes in pH and organic acid metabolism may affect color of stored strawberry fruit. **Postharvest Biology and Technology**, v. 17, n. 1, p. 19-32, Sept. 1999.

HUANG, C. C.; WANG, Y. T. Effects of storage temperature on the colour and quality of litchi fruit. **Acta Horticulture**, v.269, p.307, 1990.

HULTIN, H. O.; SUN, B.; BULGER, J. Pectin methyl esterase of the banana: purification and properties. **Journal of Food Science**, Chicago, v. 31, n. 3, p. 320-327, May/Jun. 1966.

JACQUES, A. C. **Estabilidade de compostos bioativos em polpa congelada de amora-preta (*Rubus fruticosus*) cv.tupy**. 2009. 49p. Dissertação (Mestrado em Ciência e Tecnologia Agroindustrial) – Faculdade de Agronomia. Universidade Federal de Pelotas, Pelotas.

JEN, J.J.; ROBINSON, M.L.P. Pectinolytic enzymes in sweet bell peppers (*Capsicum annuum L.*). **Journal of Food Science**, Chicago, v.49, n.4, p.1045-1087, Mar./Apr. 1984.

JONES, D. H. Phenylalanine ammonia lyase: regulation of its induction, and its role in plant development. **Phytochemistry**, Oxford, v.23, n.7, p.1349-1359, Jul. 1984.

MATSUMO, H.; URITANI, I. Physiological behavior of peroxidase enzymes in sweet potato root tissue injured by cutting or back root. **Plant and Cell Physiology**, v, 13, p. 1091-1101, Sept, 1972.

MCCREADY, P. M.; MCCOMB, E. A. Extraction and determination of total pectic material. **Analytical Chemistry**, New York, v. 24, n. 12, p. 1586-1588, Dec. 1952.

MENEZES, J.B. Pós-colheita do pedúnculo do caju. **Informe Agropecuário**, Belo Horizonte, v.17, n. 180, p. 13-17, 1994.

MERINO, D.M., URIARTE, C. Conservación del kiwi. **Fruticultura Profesional**, Barcelona, n. 22, p.35-42, 1989.

NELSON, N. A photometric adaptation os Somogyi method for determination of glicose. **Journal of Biological Chemistry**, Baltimore, v.135, n.1, p.136-175, Jan. 1944.

PENG, S.; SCALBERT, A.; MONTIES, B. Insoluble ellagitannins in *Castanea sativa* e *Quercus petraea* woods. **Phytochemistry**, v.30, n. 3, p. 775-778, Mar. 1991.

PERKINS-VEAZIE, P.; CLARK, J. R. Cultivar and maturity affect postharvest quality of fruit from erect blackberries. **HortScience**, Alexandria, v.31, n.2, p.258-261, Apr. 1996.

PERKINS-VEAZIE, P.; COLLINS, J. K. Quality of erect-type blackberry fruit after short intervals of controlled atmosphere storage. **Postharvest Biology and Technology**, Amsterdam, v. 25, n. 2, p. 235-239, Jun. 2002.

PRESSEY, R.; AVANTS, J.K. Solubilization of cell walls by tomato polygalacturonases: effects of pectinesterases. **Journal of Food Biochemistry**, Trumbull, v.1, n.6, p.57-74, Dec. 1982.

RHODES, M.J.C.; WOOLTORTON, L.S.C. Changes in the activity of enzymes of phenylpropanoid metabolism in tomatoes stored at low temperatures. **Phytochemistry**, v. 16, n. 6, p. 655-659, Mar. 1971.

RUFINO, M.S.M. et al. Free radical-scavenging behaviour of some north-east Brazilian fruits in a DPPH system. **Food Chemistry**, Columbus, v.114, n.2, p.693-695, Sept. 2009.

SALISBURY, F.B.; ROSS, C. W. **Plant physiology**. 3. ed. California, Belmont: Wadsworth Publishing Company. 1991, 692p.

SALUNKHE, D.K.; DESAI, B.B. **Postharvest Biotechnology of fruits**. Boca Raton: CRC Press, 1984. v.1, p.77-93.

SISTRUNK, W.A.; MORRIS, J.R. Storage stability of strawberry products manufactured from mechanically harvested strawberries. **Journal of the American Society of Horticultural Science**, v. 103, n. 5, p. 616–620, Sept. 1978.

STROHECKER, R. L.; HENNING, H. M. **Análisis de vitaminas: métodos comprobados**. Madri: Paz Montalvo, 1967. 428 p.

TEISSON C. Lê brunissement interne de l'ananás. I-Historique. II- Material e métodos. **Fruits**, v. 34, n. 4, p. 245-281, Jul./Aug. 1979.

TOMAS-BARBERAN, F.; JESPIN, J.C. Phenolic compounds and related enzymes as determinants of quality of fruits and vegetables. **Journal Science Food and Agriculture**, v. 81, n. 9, p. 853-876, Jul. 2001.

WALSH, C. S.; POPENOE, J.; SOLOMOS, T. Thornless blackberry is a climacteric fruit. **HortScience**, Alexandria, v. 18, n. 3, p. 482-483, Aug. 1983.

WANG, S.Y.; LIN, H.S. Antioxidant activity in fruits and leaves of blackberry, raspberry, and strawberry varies with cultivar and developmental stage. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, Washington, v.48, n.2, p.140-146, Jan. 2000.

WATERHOUSE, A.L. **Determination of total phenolics**. In: Current protocols in food analytical chemistry, Supplement 6, Unit 11.1.1–11.1.8. Wiley, New York, 2002. 8p.

ZHENG, W.; WANG, S. Y. Oxygen radical absorbing capacity of phenolics in blueberries, cranberries, chokeberries, and lingonberries. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 51, n. 2, p. 502 - 509, Dec. 2003.

ZUCKER M. Induction of phenylalanine decarboxylase by light and its relation to chlorogenic acid synthesis in potato tuber tissue. **Plant Physiology**, v. 40, n. 5, p. 779-784, Sept. 1965.

CAPÍTULO 4

PERFIL VOLÁTIL DE AMORA-PRETA DURANTE O ARMAZENAMENTO

RESUMO

Este trabalho foi realizado com o objetivo de traçar o perfil volátil de amoras-preta cultivar Tupy *in natura*, ao longo do período de armazenamento refrigerado. Os frutos foram colhidos na cidade de Itamonte, MG, no estágio de maturação comercial, padronizando-se tamanho, cor e ausência de injúrias e, em seguida, armazenados em embalagens de polietileno com tampa do mesmo polímero. As amostras foram armazenadas em câmara fria, a 0 ± 1 °C e $90\pm 5\%$ UR, por 12 dias. As avaliações cromatográficas utilizando-se a técnica de microextração em fase sólida (SPME) foram realizadas nos períodos de 0, 3, 7, 9 e 12 dias de armazenamento. Foram identificados 44 compostos voláteis durante o período de conservação pós-colheita dos frutos de amora-preta cultivar Tupy, dos quais 56,82% eram representados por compostos terpenos, 25% por ésteres, 11,36% por compostos alcoóis e 6,82% por aldeídos. Os componentes que apresentaram maior área relativa no perfil volátil da amora-preta avaliada foram o 2-heptanol, seguido pelo β -nerolidol, espatulenol, biciclogermecreno e cis-cariofileno. A análise de componentes principais (PCA) mostrou a separação de três grupos distintos, baseada no tempo de armazenamento, em que as amoras dos tempos iniciais foram semelhantes (0, 3 e 7 dias) e as amostras dos tempos finais se distanciaram.

Palavras-chave: *Rubus* spp. Voláteis. Cromatografia. Armazenamento.

ABSTRACT

This work was carried out in order to profile volatile blackberry cultivar Tupy in nature, over the period of cold storage. The fruits were harvested in the city of Itamonte-MG in the stage of commercial maturity to standardize the size, color and about the lack of injuries, and then stored in polyethylene cover with the same polymer. The samples were stored in cold storage at 0 ± 1 °C and $90 \pm 5\%$ UR for 12 days. Evaluations using the chromatographic technique solid phase microextraction (SPME) were performed during periods of 0, 3, 7, 9 and 12 days of storage. Can see that 44 volatile compounds were identified during the post harvest preservation of fruits of blackberry cultivar Tupy, and represented 56,82% of these compounds terpenes, 25% esters, 11,36% compounded alcohols and 6,82% aldehydes. The components that showed a larger area on the volatile profile of blackberry were 2-Heptanol, followed by β -Nerolidol, Espatulenol, Biciclogermecreno and Cis caryophyllene. The principal component analysis (PCA) showed the separation of three distinct groups, based by storage time, where the berries of early times were similar (0, 3 and 7 days) and samples of the end times diverged.

Keywords: *Rubus* spp. Volatile. Chromatography. Storage.

1 INTRODUÇÃO

A amora-preta (*Rubus* spp.) pertence à família Rosaceae, gênero *Rubus*, formando um grupo diverso e bastante difundido, para o qual se estima existirem entre 400 a 500 espécies (ANTUNES et al., 2006).

Por se tratar de frutos extremamente perecíveis, são necessários cuidados adicionais quando destinados ao consumo *in natura*, a fim de preservar as características sensoriais e nutricionais do fruto até o seu consumo final.

O sabor dos frutos é uma resposta integrada às sensações de gosto e aroma, estando relacionado com a aceitação e a escolha de um produto alimentício. A percepção do gosto deve-se à presença de compostos não voláteis, tais como açúcares, ácidos orgânicos, terpenoides, fenólicos e sais minerais, causando sensações básicas, como doce, salgado, ácido e amargo. Já a sensação do aroma envolve centenas e milhares de substâncias voláteis (RIU-AUMATEL et al., 2004).

Os compostos voláteis que formam o *flavor* característico dos frutos são produzidos por rotas metabólicas durante a maturação, colheita, pós-colheita e armazenamento e dependem de muitos fatores como espécie, variedade e tipo de tratamento tecnológico. Os compostos voláteis podem ser derivados de aminoácidos, ácidos graxos, carboidratos e carotenoides. Constituem um grupo heterogêneo de compostos, com cadeia linear, ramificada, aromática e heteroaromática, apresentando grupos químicos diferentes, como hidroxila, carbonila, carboxila, éster, lactona, amina, e funções tiol (PINHO et al., 2009).

A função dos voláteis nas frutas como um sinal de maturação e como um atrativo para os organismos dispersores das sementes é apoiada pelo fato de que algumas substâncias são especificamente formadas em frutos maduros, estando ausentes nos tecidos vegetativos e em frutos imaturos (GOFF; KLEE, 2006).

Embora uma única fruta ou vegetal sintetize centenas de compostos voláteis, apenas um pequeno subconjunto gera a impressão digital do *flavor*, em função das proporções de voláteis de impacto e da presença ou ausência desses componentes, permitindo a escolha dos alimentos pelos indivíduos.

Dentre as técnicas de determinação, a microextração em fase sólida (SPME) é uma alternativa de extração que não induz modificações dos compostos voláteis devido ao efeito da temperatura ou do solvente. Esse tipo de extração envolve a adsorção de analitos em uma fibra de sílica revestida com uma fase estacionária e sua posterior dessorção térmica, permitindo a injeção direta de analito em coluna do cromatógrafo gasoso (PAWLISZYN, 2000). A espectrometria de massa associada à cromatografia gasosa é uma técnica valiosa para a análise dos compostos voláteis, visto que propicia rapidez e praticidade na análise da constituição química autêntica do aroma da fruta e tem sido amplamente utilizada em vegetais (PINHO et al, 2009).

Devido à escassez de estudos relacionados à caracterização do perfil volátil de amoras-pretas, este trabalho foi realizado com o objetivo de avaliar o efeito do tempo de armazenamento sobre os compostos voláteis de amora-preta cultivar Tupy *in natura*, armazenada por 12 dias sob refrigeração, utilizando a técnica de microextração de fase sólida (SPME).

2 MATERIAL E MÉTODOS

2.1 Obenção dos frutos, montagem e condução do experimento

Os frutos utilizados neste experimento foram provenientes de plantio comercial, no município de Itamonte, MG. Utilizou-se a cultivar Tupy, sendo sua colheita realizada em novembro de 2010, no período da manhã, para minimizar perdas por transpiração, procedendo-se a colheita manual.

Os frutos foram colhidos obedecendo à uniformidade de tamanho, cor e ausência de injúrias e armazenados em bandejas de polietileno com tampa do mesmo polímero. Os frutos foram transportados, em caminhão refrigerado, da cidade de procedência para o Laboratório de Pós-Colheita de Frutas e Hortaliças da Universidade Federal de Lavras (UFLA), onde foram manipulados com o devido cuidado, evitando-se qualquer injúria ao tecido.

Posteriormente, os frutos foram armazenados em embalagem de polietileno com tampa rígida encaixável do mesmo polímero, a 0 ± 1 °C e $90\pm 5\%$ UR, por 12 dias e as avaliações foram realizadas nos períodos de 0, 3, 7, 9 e 12 dias de armazenamento.

2.2 Compostos voláteis

A análise de compostos voláteis foi realizada na Central de Análises e Prospecção Química da Universidade Federal de Lavras, em Lavras, MG.

A extração e a identificação dos compostos voláteis da amora-preta foram realizadas utilizando-se a técnica de microextração em fase sólida (SPME), em cromatógrafo gasoso acoplado ao espectrômetro de massa GC-2010 – Gás Chromatograph Shimadzu® e GCMS – QP2010 Plus – Gas Chromatograph Mass Spectrometer.

Preliminarmente às extrações, a fibra extratora foi condicionada, a 300 °C, por 30 minutos, em cromatógrafo gasoso. Entre cada exposição das amostras, a fibra (PDMS/DVB) era limpa e condicionada a uma temperatura de 300 °C, por 30 minutos, no mesmo cromatógrafo.

Quatro gramas de fruto congelado foram transferidos para um frasco de vidro (próprio para retenção de volátil) com capacidade para 10 mL e levados para agitação, à velocidade constante de 50 rpm e aquecimento, a 45 °C, por 30 minutos. O procedimento de extração envolveu a exposição da fibra de *polydimethylsiloxiane/divinilbenze* (PDMS/DVB, 65 µm, Supelco) ao *headspace* de cada amostra em frascos fechados.

Após esse tempo de agitação, aquecimento e exposição à fibra, a seringa foi imediatamente levada ao injetor do CG-MS, no qual os compostos voláteis foram dessorvidos, por 2 minutos, a 250 °C. Para a identificação, utilizou-se aparelho Shimadzu CG-17A, com detector seletivo de massas modelo QP5050A, sob as seguintes condições operacionais: coluna capilar de sílica fundida (Equity-5) de 30 m x 0,25 mm e 0,25 µm de espessura, tendo como fase estacionária 5% de difenil e 95% de polidimetilsiloxano (DBS); temperatura do injetor de 220 °C; programação da coluna com temperatura inicial de 40° C, sendo acrescidos 4 °C a cada minuto, até atingir 200 °C; gás de arraste hélio, com 1,82 mL.min⁻¹ fluxo na coluna; sem split, com pressão inicial na coluna de 102,4 kPa.

As condições do espectrômetro de massas (EM) foram as seguintes: detector seletivo de massas operando por impacto eletrônico e energia de impacto de 70 eV; velocidade de varredura 1.000 m/z s⁻¹; intervalo de varredura de 0,5 fragmento/segundo e fragmentos detectados de 29 Da e 600 Da.

Cada componente foi identificado pela comparação de seu espectro de massas com espectros existentes na literatura (ADAMS, 1995), com base nos espectros avaliados pelo banco de dados (Wiley 8. LIB e FFNSC.1.2.lib). Visto

que não foram utilizados padrões para a confirmação da identidade dos compostos, estes foram considerados como tentativamente identificados.

2.3 Análises estatísticas

Os dados da composição dos voláteis obtidos por cromatografia foram analisados pela análise dos componentes principais (*principal component analysis*, ou PCA). Os dados foram pré-processados por autoescalamento antes das análises por PCA. Os cálculos foram realizados no software R.

3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

Na Tabela 1 são apresentados os compostos voláteis tentativamente identificados, com seus respectivos tempos de retenção e porcentagens médias das áreas relativas dos picos encontrados em amoras-pretas cultivar Tupy *in natura*, durante o armazenamento a 0 °C, por 12 dias.

Tabela 1 Compostos voláteis, tempo de retenção e porcentagem de áreas relativas de componentes aromáticos de amora-preta cv. Tupy, armazenadas a 0±1°C, por 12 dias

Compostos*	Tempo de retenção	Área relativa do pico (%)				
		0 dia	3 dias	7 dias	9 dias	12 dias
Álcool						
1-hexanol	6,06	Nd	Nd	Nd	0,32	Nd
2-heptanol	6,97	28,13	31,15	34,59	20,07	18,91
2-pinen-4-ol	10,36	Nd	Nd	Nd	Nd	0,34
Farnesil álcool	26,31	1,22	Nd	Nd	Nd	Nd
2-butil-1-octanol	28,08	Nd	Nd	Nd	Nd	0,30
Éster						
Acetato	3,19	Nd	0,58	Nd	Nd	Nd
Etil butanoato	4,26	1,68	Nd	Nd	Nd	Nd
Etil hexanoato	10,15	Nd	1,08	Nd	Nd	0,24
(+)-linalil acetato	25,53	Nd	Nd	Nd	0,78	Nd
Dioctadecil éster	26,25	Nd	Nd	Nd	1,82	Nd
Metil hexanoato	27,77	Nd	Nd	Nd	Nd	1,13
Ácido 1,2-benzenodicarboxílico dietil éster	29,83	Nd	0,92	Nd	Nd	Nd
Ácido docosa-hexaenoico, 1,2,3-propanetril éster	30,81	0,08	Nd	Nd	Nd	Nd
Ácido tetradecanoico, 1-metiletil éster	30,82	Nd	Nd	Nd	Nd	1,28
Dietil hexilmalonato	32,81	Nd	Nd	Nd	Nd	0,71
Di(2-etil-hexil) malonato	33,04	Nd	Nd	Nd	0,10	Nd
Aldeído						
Hexanal	4,31	2,64	Nd	Nd	Nd	Nd
Tetradecanal	24,07	Nd	Nd	Nd	Nd	0,82
1-Dodecanal	26,25	Nd	Nd	Nd	Nd	5,95

... cont....

Tabela 1, continua

Tabela 1 Compostos voláteis, tempo de retenção e porcentagem de áreas relativas de componentes aromáticos de amora-preta cv. Tupy, armazenadas a 0±1°C, por 12 dias

Terpenos							
7- hidroxiepteno	5,54	2,60	Nd	Nd	Nd	Nd	Nd
α (+)-pineno	7,81	Nd	Nd	0,67	Nd	Nd	Nd
(-) camfeno	8,27	Nd	Nd	0,61	Nd	Nd	Nd
(-)-limoneno	11,06	Nd	Nd	Nd	Nd	Nd	0,19
B-Burbuneno	23,41	Nd	Nd	0,47	Nd	Nd	Nd
β -elemeno	23,65	1,77	0,87	1,74	3,09	2,08	
Hexadecano	23,78	Nd	Nd	Nd	Nd	1,07	
cis-cariofileno	24,50	10,01	4,62	8,13	9,00	8,74	
Germacreno	24,97	1,16	0,83	1,50	4,17	Nd	
(+)-sativen	25,10	Nd	Nd	Nd	3,56	Nd	
Humuleno	25,11	5,05	Nd	Nd	Nd	Nd	
Cis- β -farnesene	25,66	Nd	Nd	Nd	Nd	2,01	
β -farnesol	25,71	Nd	Nd	Nd	1,35	Nd	
Sesquichameno	26,33	Nd	Nd	1,09	Nd	Nd	
B-Selineno	26,59	3,32	Nd	Nd	2,61	Nd	
2,5,6-trimetil-1,3,6-heptatrieno	26,88	Nd	Nd	Nd	Nd	8,51	
Biclogermacreno	26,90	12,35	Nd	11,11	8,05	Nd	
(-)-alpha-copaene	26,31	Nd	0,54	Nd	Nd	Nd	
(-)- α -copaeno	27,42	Nd	Nd	Nd	0,88	Nd	
δ -cadiene	27,74	Nd	0,36	2,51	Nd	Nd	
Eicosano	29,97	Nd	Nd	Nd	0,55	Nd	
Ledol	28,28	Nd	Nd	0,38	Nd	Nd	
β -nerolidol	28,94	6,42	4,73	8,66	8,11	13,79	
(-)-Epatulenol	29,33	7,96	5,39	8,89	8,28	11,67	
2-Ciclo-hexildodecano	34,35	Nd	Nd	Nd	Nd	0,15	

* tentativamente identificados por comparação dos espectros de massas com o banco existente na literatura (Wiley 8.LIB e FFNSC. 1.2 lib); Nd- não detectado

De acordo com os resultados, é possível observar que foram identificados 44 compostos voláteis durante o período de conservação pós-colheita dos frutos de amora-preta cultivar Tupy, dos quais 56,82% eram representados por compostos terpenos, 25% de ésteres, 11,36% de compostos alcoóis e 6,82% de aldeídos.

Os componentes que apresentaram maior área relativa no perfil volátil da amora-preta avaliada foram o 2-heptanol, seguido pelo β -nerolidol, (-)-espatulenol, biciclogermecreno e cis-cariofileno.

O baixo número de substâncias detectadas deve-se ao método de extração empregado, SPME. Em razão de ser uma técnica de captação de componentes presentes no *headspace*, SPME apresenta rendimento de extração limitado, apresentando, geralmente, um cromatograma simplificado, contendo pequenas dezenas de compostos (VALENTE; AUGUSTO, 2000). Entretanto, os componentes voláteis extraídos por SPME representam com mais fidelidade o aroma autêntico da fruta percebido pelos receptores sensoriais humanos porque não contêm contaminantes de solventes, artefatos ou substâncias de difícil volatilização (VALENTE; AUGUSTO, 2000).

Pelos dados da Tabela 1 é possível observar que o tempo de armazenamento influenciou a composição volátil. A biossíntese de compostos voláteis é fortemente afetada pelas mudanças bioquímicas e fisiológicas que ocorrem durante o amadurecimento do fruto, tais como amaciamento da polpa, desenvolvimento de pigmentos, incremento na taxa de respiração e produção de etileno, alterações no metabolismo de carboidratos e lipídios (CANUTO; NETO; GARRUTI, 2009).

O heptanol foi o composto álcool de maior representação. Os alcoóis podem ser originados como produtos secundários da degradação oxidativa de lipídios. Alguns autores mencionam que a presença de alcoóis no aroma de frutas se deve à formação de *off flavor*, estando esses compostos relacionados

com o aroma de “ardido, pungente” (SENESI et al., 2005). Ao determinar os componentes voláteis de amora utilizando-se a técnica de microextração em fase sólida, Ibáñez et al. (1998) identificaram o 2-heptanol e o p-cimen-8-ol como os constituintes principais do perfil volátil, sendo seu sabor e sua contribuição descritos, respectivamente, como frutado e herbáceo-floral-picante.

Georgilopoulos e Gallois (1987) identificaram 245 compostos aromáticos em amoras frescas, entre os quais os principais compostos foram heptan-2-ol (43,06%), p-cimen-8-ol (3,72%), heptan-2-ona (3,32%), hexan-1-ol (3,05%), um terpineol (2,38%), pulegona (2,05%) e octan-1-ol (1,83%). No entanto, os autores não indicaram um composto aromático específico na amora fresca.

Além dos alcoóis, os ésteres voláteis também apresentaram uma contribuição no perfil volátil. Os ésteres são gerados a partir da esterificação dos alcoóis e acil-CoA derivados tanto do ácido graxo como do metabolismo de aminoácidos, em uma reação catalisada pela enzima álcool aciltransferase (SANZ et al, 1997). Eles são importantes constituintes do perfil volátil de muitas frutas, caracterizando o aroma frutal, estando, normalmente, associado a ésteres de 3 a 8 átomos de carbono (ROSSITER, 1996).

Augusto et al. (2000) realizaram um mapeamento do aroma de diversas frutas brasileiras e verificaram que os constituintes principais do aroma do cajá, da graviola e do cupuaçu pertenciam à classe dos ésteres.

Os aldeídos podem ser originados a partir da degradação lipídica, pela degradação de Strecker ou pela reação de Maillard (HOLSCHER et al., 1990). Os aldeídos das amoras tiveram sua área relativa aumentada no final do armazenamento. Em muitos frutos, os aldeídos são os compostos majoritários e altas concentrações desses compostos representam o sabor agradável desses vegetais. É possível observar que o hexanal esteve presente no tempo 0 de

armazenamento, sendo este descrito, por alguns autores (KALUA et al, 2007), como responsável pelo aroma verde dos vegetais.

Ibáñez et al. (1998) identificaram hexanal e trans-2-hexanal como constituintes do perfil aromático de amoras frescas, tendo o hexanal também sido encontrado neste trabalho.

O cariofileno é um sesquiterpenoide de ocorrência comum em muitos óleos essenciais. Ocorre na natureza como mistura dos isômeros: isocariofileno, α -cariofileno (humuleno) e β -cariofileno (VALLILO et al., 2006). De acordo com Tu et al. (2002), o cariofileno apresenta-se como um composto que confere aos frutos e vegetais um sabor fresco e frutado. Jiang e Kubota (2004), ao caracterizarem os frutos da espécie *Xanthoxylum piperitum*, atribuíram ao aroma do beta carofileno a classificação de leve e fresco.

Ancos et al. (2000), ao determinarem o perfil volátil de framboesas de diferentes cultivares, encontraram o cariofileno como o componente majoritário da cultivar *Autumn bliss*. Quarenta e dois voláteis foram identificados em amostras de amoras da cultivar Marion. Dentre os componentes majoritários encontrados destacou-se o nerolidol, composto que é um volátil comumente associado ao sabor de framboesa (PERKINS-VEAZIE, 1999).

O sesquiterpenoide beta-elemeno, de acordo com Tu et al. (2002) e Jiang e Kubota (2004), confere aos vegetais aroma fresco e verde. Observou-se que este constituinte esteve presente em todos os tempos analisados.

Ao caracterizar cinco variedades de amora-preta por CG/MS, Turemis et al. (2003) afirmaram que os furanos foram os compostos aromáticos mais prevalentes, tendo o principal componente sido o 5-hidroximetilfurfural, correspondendo de 79,6% a 96,1% do perfil de aroma, dependendo da variedade. O outro composto principal encontrado foi o 2,3-di-hidro-3,5-di-hidroxi-6-metil-4H-pirano-4-ona, que variou entre 5,7%-9,8% em quatro variedades (TUREMIS et al., 2003). Estes dados mostram que a variabilidade

genética é um fator de variação entre os compostos voláteis, compostos estes que não foram encontrados neste trabalho.

A análise dos componentes principais (PCA) está demonstrada no Gráfico 1.

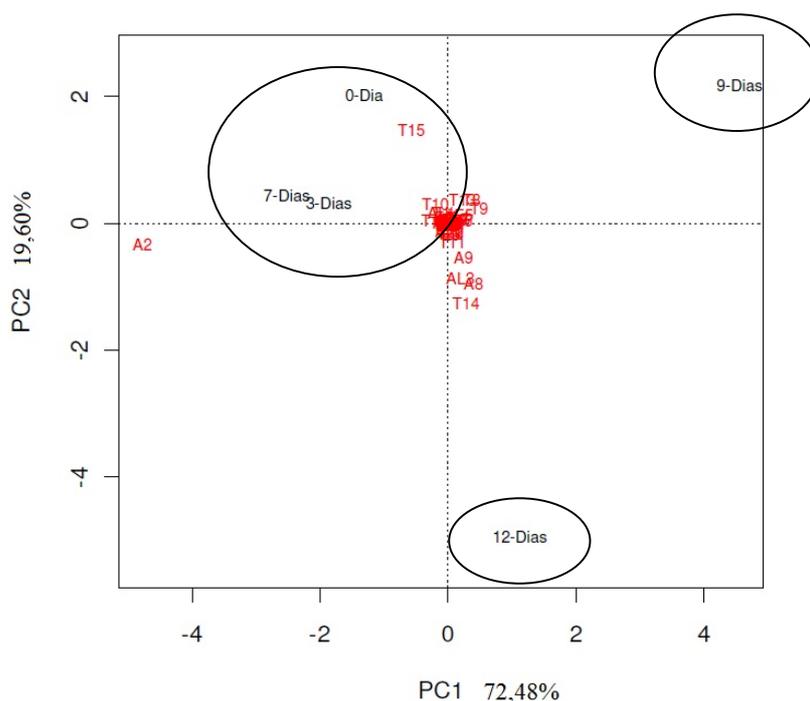


Gráfico 1 Análise de componente principais (PCA)

A1= 1-hexanol; A2= 2-heptanol; A3= 2-pinen-4-ol; A4= β -farnesol; A5= farnesil álcool, A6= 2-butil-1-octanol; A7= ledol; A8= β -nerolidol, A9= (-)-espatulenol; E1= acetato; E2= etil butanoato; E3= etil hexanoato; E4= (+)-linalil acetato; E5= dioctadecil éster; E6= metil hexanoato, E7= ácido 1,2-benzenodicarboxílico dietil éster; E8= ácido docosa-hexaenoico, 1,2,3-propanetril éster; E9= ácido tetradecanoico, 1-metiletil éster; E10= dietil hexilmalonato; E11= di(2-etil-hexil) malonato; AL1= hexanal; AL2= tetradecanal; AL3= 1-dodecanal; T1= 7-hidroxipteno; T2= α (+)-pineno; T3= (-) camfeno; T4= β -burbuneno; T5= β -elemeno; T6= hexadecano; T7= cis-cariofileno; T8= germacreno; T9= (+)-sativene; T10= humuleno; T11= cis- β -farnesene; T12= sesquichameno; T13= β -selineno; T14= 2,5,6-trimetil-1,3,6-heptatrieno; T15= biciclogermacreno; T16= (-)- α -copaene; T17= (-)- α -copaeno; T18= δ -cadiene; T19= eicosano, T20= hexadecano; T21= biciclo[5.2.0]nonano, 4,8,8-trimetil-2-metileno, T22= meptadecano, 2,6,10,15-tetrametil; T23= 2-ciclo-hexildodecano; T24= (-)-limoneno.

No Gráfico 1 observam-se tanto os escores, nos quais os dois primeiros componentes principais foram responsáveis por explicar 92,07% da variabilidade total presente no conjunto de dados, quanto os pesos que revelam a relação entre as amostras pelos compostos voláteis identificados durante o armazenamento da amora-preta.

A análise dos dados químicos pela técnica de PCA permitiu agrupar quimicamente as amostras em três grupos, de modo a expressar e evidenciar suas semelhanças e diferenças, sendo eles: o primeiro grupo, formado pelas amostras dos tempos 0, 3 e 7 dias; o segundo, formado pela amostra do tempo 9 dias e o terceiro, formado pela amostra do tempo de 12 dias de armazenamento. Sendo assim, verifica-se claramente a distinção das amostras pelo tempo de armazenamento, em que as amostras dos tempos iniciais foram semelhantes e as amostras dos tempos finais se distanciaram.

Em geral, todas as amostras apresentaram um padrão de perfil de aroma semelhante, pois a maioria dos compostos identificados se encontra na posição central, próximo de todas as amostras, salvo algumas exceções que serão descritas posteriormente.

Observa-se que as amostras do primeiro grupo ficaram mais próximas devido à similaridade dos teores do componente biciclogermacreno, representado pelo código T15.

A amostra do tempo 12 se distanciou das demais por apresentar porcentagens mais expressivas dos compostos: 2,5,6-trimetil-1,3,6-heptatrieno (T14) e 1-dodecanal (AL3), que só estiveram presentes neste tempo, e dos terpenos β -nerolidol (A8) e (-)-espatulenol (A9), que estavam presentes em todas as amostras, porém, em porcentagens superiores nesta amostra, quando comparada às demais.

4 CONCLUSÕES

Foram identificados 44 compostos voláteis durante o período de conservação pós-colheita dos frutos de amora-preta cultivar Tupy, dos quais 56,82% eram representados por compostos terpenos, 25% por ésteres, 11,36% por compostos alcoóis e 6,82% por aldeídos.

Os componentes que apresentaram maior área relativa no perfil volátil da amora-preta avaliada foram o 2-heptanol, seguido por β -nerolidol, (-)-espatulenol, biciclogermecreno e cis-cariofileno.

A análise de componentes principais (PCA) mostrou a separação de três grupos distintos, baseada no tempo de armazenamento, em que as amoras dos tempos iniciais apresentaram perfis semelhantes (0, 3 e 7 dias) e as amostras dos tempos finais se distanciaram.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ADAMS, R. O. S. **Identification of essential oil components by gás chromatography/mass spectroscopy**. Carol Stream: Allured, 1995. 469 p.
- ANCOS, B. et al. Frozen storage effects on anthocyanins and volatile compounds of raspberry fruit. **Journal Agriculture and Food Chemistry**, v. 48, n. 3, p. 873-879, Mar. 2000.
- ANTUNES, L.E.C. et al. Produção Extemporânea de Amora-preta. **Revista Brasileira de Fruticultura**, Jaboticabal, v.28, n.3, p.430-434, Dec. 2006.
- AUGUSTO, F. et al. Screening of Brazilian fruit aromas using solid-phase microextraction–gas chromatography–mass spectrometry. **Journal Chromatography**, v. 873, n. 1, p. 117–127, Mar. 2000.
- CANUTO, K.M.; NETO, M.A.S.; GARRUTI, D.S. Composição química volátil, em diferentes estádios de maturação, de manga ‘Tommy Atkins’ produzida no Vale do São Francisco. **Química Nova**, v. 32, n. 9, p. 2377-2381, Oct. 2009.
- GEORGILOPOULOS, D.N.; GALLOIS, A.N. Volatile flavour compounds in heated blackberry juices. **Lebensm Unters Forsch**, v. 185, n. 4, p. 299-306, Oct. 1987.
- GOFF, S.A., KLEE, H.J. Plant Volatile Compounds: Sensory Cues for Health and Nutritional Value? **Science**, v. 311, n. 5762, p. 815-819, Feb. 2006.
- GUEDES DE PINHO, P. et al. Volatile composition of *Catharanthus roseus* (L.) G. Don using solid-phase microextraction and gas chromatography/mass spectrometry. **Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis**, v. 49, n. 3, 674-685, Apr. 2009.
- HOLSCHER, W.; VITZTHUM, O. G.; STEINHART, H.; **Café CaçãO Thé**, v. 34, p. 205- 211, 1990.
- IBÁÑEZ, E. et al. Analysis of volatile fruit components by headspace solid-phase microextraction. **Food Chemistry**, v. 63, n. 2, p. 281-286, Oct. 1998.
- JIANG, L.; KUBOTA, K. Differences in the Volatile Components and Their Odor Characteristics of Green and Ripe Fruits and Dried Pericarp of Japanese Pepper (*Xanthoxylum piperitum* DC.). **Journal Agriculture Food Chemistry**, v. 52, n. 13, p. 4197-4203, Jun. 2004.

KALUA, C.M. et al. Oliv oil volatile compounds, flavour development and quality: a critical review. **Food Chemistry**, Oxford, v. 100, n. 1, p. 273-286, Jan. 2007.

PAWLISZYN, J. Theory of solid phase microextraction. **Journal Chromatograph. Science**, v. 38, n.7, p. 270-278, Jul. 2000.

PERKINS-VEAZIE, L.P. Volatile Profile of 'Marion' Blackberry, **HortScience**, v. 34, n. 3, p. 511, Jun. 1999.

RIU-AUMATELL, M. et al. Characterisation of volatile compounds of fruit juices and nectars by HS/SPME and GC/MS. **Food Chemistry**, v. 87, n. 4, p. 627-637, Oct. 2004.

ROSSITER, K. J. Structure-Odor Relationships. **Chemical Reviews**. v. 96, n. 8, p. 3201-3240, Dec. 1996.

SANZ, C; OLIAS, J. M.; PEREZ, A. G. **Aroma biochemistry of fruits and vegetables**. In: TOMASBARBERAN, F. A.; ROBINS, R. J. ed. Phytochemistry of fruit and vegetables. New York, Oxford University Press Inc. p. 125-155, 1997.

SENESE, E. et al. Influence of ripening stage on volatiles composition, physicochemical indexes and sensory evaluation in two varieties of muskmelon (*Cucumis melo* L. var *reticulatus* Naud). **Journal of the Science of Food and Agriculture**, London, v. 85, n. 8, p. 1241-1251, Feb. 2005.

TU, N.T. et al. Characteristic Odor Components of *Citrus sphaerocarpa* Tanaka (Kabosu) Cold-Pressed Peel Oil. **Journal Agriculture Food Chemistry**, v.50, n. 10, p. 2908-2913, Apr. 2002.

TUREMIS, N. et al. Determination of aroma compounds in blackberry by gc/ms analysis. **Chemistry of Natural Compounds**, v. 39, n. 2, p. 174-176, Mar./ Apr. 2003.

VALENTE, A. L. P.; AUGUSTO, F. Microextração por Fase Sólida. **Química Nova**, v. 23, n. 4, p. 523-530, Oct. 2000.

VALLILO, M.I. et al. Composição química dos frutos de *Campomanesia adamantium* (cambessédes) o.berg. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v. 26, n. 4, p. 805-810, Oct./ Dez. 2006.

CAPÍTULO 5

CARACTERIZAÇÃO CROMÁTICA, FUNCIONAL, VOLÁTIL E SENSORIAL DO FERMENTADO ALCÓOLICO DE AMORA

RESUMO

Objetivou-se, com este trabalho, traçar e comparar as características das bebidas fermentadas de amora com os tradicionais vinhos de uva produzidos no sul de Minas Gerais. Os vinhos foram adquiridos de um produtor artesanal do município de Bueno Brandão, sul de Minas Gerais. O vinho rosé foi elaborado a partir de uvas da cultivar Niágara, o vinho tinto de uvas da cultivar Bordô e, para a elaboração da bebida fermentada de amora, utilizou-se a cultivar Brazos. Foram realizadas as seguintes análises: pH, sólidos solúveis totais, L*, a*, b*, intensidade de cor, índice de cor, tonalidade, antocianinas totais, taninos proantocianínicos, pigmentos polimerizados, compostos fenólicos totais, atividade antioxidante total, aminas biogênicas, constituintes voláteis e análise sensorial (atributos aparência, aroma, sabor, impressão global e intenção de compra). Os dados, exceto compostos voláteis e aminas biogênicas, foram submetidos à análise de variância e o teste de Tukey foi aplicado para identificar diferenças significativas entre as médias, a 5%. Os dados do conteúdo de compostos bioativos, composição dos voláteis e aminas biogênicas foram submetidos à análise dos componentes principais (*principal component analysis*, ou PCA). As amostras do fermentado alcoólico de amora, vinho tinto cv. Bordô e vinho Rosé cv. Niágara apresentaram características distintas, diferindo nos teores da maioria das variáveis avaliadas, tendo nuances diferentes também sido percebidas entre os atributos seco e suave. A análise de componentes principais distinguiu as amostras quanto aos teores das aminas biogênicas histamina, tiramina e putrescina. Os compostos voláteis encontrados foram situados nas três classes, alcoóis, ésteres e terpenos, tendo os compostos 1-pentanol, 3,7,11-trimetildodeca-1,6,10-trien-3-ol, acetato e isopentenil acetato permitido a distinção entre os vinhos. Embora o fermentado alcoólico de amora tenha apresentado um baixo teor de antocianinas, outros constituintes podem estar contribuindo para elevar sua atividade antioxidante, visto que esta foi semelhante à do vinho cv. Bordô.

Palavras-chaves: *Rubus* spp. Fermentação. Aminas biogênicas. SPME.

ABSTRACT

The objective of this work was to trace and compare the characteristics of blackberry wine with traditional grape wines produced in the South of Minas Gerais. The wines were purchased at a craft producer in the city of Bueno Brandao - South of Minas Gerais, and the rosé wine was produced from grapes of the cultivar Niágara, red wine grapes of cv. Bordô and the wine of blackberry cultivar Brazos. The following analysis were done: pH, soluble solids, L *, a *, b*, color intensity, color index, hue, total anthocyanins, tannins proantociânicos, polymerized pigments, total phenolics, total antioxidant activity, biogenic amines, volatile constituents and sensory analysis (appearance attributes, flavour, taste, overall impression and purchase intention). The data, except volatile and biogenic amines, were submitted to ANOVA and Tukey test was applied to identify significant differences between the means at 5%. The data of bioactive composition, and compounds of volatile and biogenic amines were analyzed by Principal Component Analysis (PCA). The three wines, blackberry wine, red wine cv. Bordô and rosé cv. Niágara had distinct characteristics in differing levels of most variables evaluated, and different nuances were also noticed between the dry and soft attributes. The principal component analysis distinguished the samples for the levels of biogenic amines histamine, tyramine and putrescine. The volatile compounds found were located in three classes, alcohols, esters and terpenes, and the compounds 1-pentanol, 3,7,11-Trimetildodeca-1,6,10-Trien-3-ol, acetate and isopentenyl acetate allowed the distinction between wines. Although the blackberry wine has submitted a low content of anthocyanins, other components may be contributing to boost their antioxidant activity, since this was similar to the wine cv. Bordô.

Keywords: *Rubus* spp. Fermentation. Biogenic amines. SPME

1 INTRODUÇÃO

O Brasil é um grande produtor de frutas para consumo *in natura*, entretanto, devido a problemas de processamento pós-colheita, a maior parte destas frutas é desperdiçada, gerando prejuízos para o produtor. Uma das alternativas viáveis para reduzir o desperdício e acrescentar renda para o produtor é a comercialização das frutas transformadas em produtos industrializados, como geleias, sucos e vinhos.

Corazza, Rodrigues e Nozaki, (2001) afirmam que qualquer fruto ou vegetal comestível que contenha umidade suficiente, açúcar e outros nutrientes para as leveduras pode servir como matéria-prima para a produção de bebidas alcoólicas, ou seja, a produção de uma boa bebida fermentada com sabores característicos de cada fruta.

A uva tem grande destaque como a principal matéria-prima utilizada na produção de vinhos nas últimas décadas (REDDY; REDDY, 2005), no entanto, vem se observando um crescimento no número de trabalhos relativos ao emprego de frutas na produção de bebidas fermentadas. Manga (REDDY; REDDY, 2005), jaboticaba (ASQUIERI et al., 2004) e cacau (DIAS et al., 2007) já foram matéria-prima para a elaboração de bebida fermentada.

De acordo com Antunes (2002), as amoras-pretas são altamente nutritivas. Elas contêm 85% de água, 10% de carboidratos, elevado conteúdo de minerais, vitaminas do complexo B e A e cálcio, além de ser fonte de compostos funcionais, como os compostos fenólicos com propriedades antioxidantes (cianidina-3-glicosídeo e cianidina-3-rutinosídeo, quercetina, kaempferol, ácidos hidroxicinâmicos e hidroxibenzoicos) (MAATA-RIIHINENN; KAMAL-ELDIN; TÖRRÖNEN, 2004) e altos teores de antocianinas, o que propicia a produção de um fermentado com boas características.

Aliado a isso, a amora é um fruto que encontra entraves à comercialização, dados o difícil manuseio e a grande perecibilidade que apresenta, o que justifica ainda mais a produção de produtos a partir dela, sendo a bebida fermentada um exemplo.

A produção de uma bebida fermentada inicia-se pela fermentação do mosto das frutas pelas leveduras. Durante a fermentação dos açúcares ocorre a produção outros metabólitos, além de etanol e CO₂, embora em baixa quantidade, como alcoóis superiores, aldeídos, ésteres e acetatos, que podem ser bastante importantes, na medida em que são compostos químicos responsáveis pelo aroma e que poderão influenciar as propriedades sensoriais das bebidas alcoólicas produzidas (WARD, 1991).

Assim, o estudo da fração volátil de produtos enológicos é importante, principalmente considerando que estes compostos dão importante contribuição para a percepção global da qualidade das bebidas pelo consumidor (CASTRO et al., 2008).

Além dos compostos voláteis, durante a fermentação, podem-se produzir compostos, tais como as aminas bioativas que, em uvas e vinhos, são importantes tanto no aspecto tecnológico quanto toxicológico. As poliaminas são essenciais para a produtividade e a qualidade das uvas. Entretanto, as aminas biogênicas, quando em elevadas concentrações, podem causar risco à saúde de indivíduos sensíveis, além de apresentar efeito negativo no sabor e no aroma do vinho. Além disso, podem ser utilizadas para indicar as condições edafoclimáticas prevalentes durante a produção e as condições higiênico-sanitárias durante o processamento (GLÓRIA; VIEIRA, 2007).

Diante do exposto, este trabalho foi realizado com o objetivo de traçar e comparar as características da bebida fermentada de amora com os tradicionais vinhos produzidos no sul de Minas Gerais.

2 MATERIAL E MÉTODOS

2.1 Matéria-prima

Os vinhos foram adquiridos de um produtor artesanal do município de Bueno Brandão, no sul de Minas Gerais, no mês de junho de 2010, tendo sido elaborados com a safra de uva e amora produzidas no ano de 2009.

Para a elaboração do vinho tinto utilizaram-se uvas da cultivar Bordô; para o vinho rose, uvas da cultivar Niágara e, para a elaboração do vinho de amora, cultivar Brazos. Para cada cultivar utilizada foram obtidas seis amostras de vinho seco e outra de vinho suave.

Coletaram-se seis tipos de vinhos, denominados da seguinte forma:

- vinho tinto seco – elaborado com uvas cv. Bordô;
- vinho tinto suave – elaborado com uvas cv. Bordô;
- vinho rosado seco – elaborado com uvas cv. Niágara;
- vinho rosado suave – elaborado com uvas cv. Niágara;
- bebida fermentada de amora seca – elaborado com amoras cv. Brazos;
- bebida fermentada de amora suave – elaborado com amoras cv. Brazos.

2.2 Análises realizadas

As análises realizadas nos vinhos serão descritas abaixo.

2.2.1 pH

A mensuração do pH foi feita diretamente nos vinhos, empregando-se pHmetro Tecnal (TEC 3M) com eletrodo de vidro, conforme recomendações da Association of Official Analytical Chemists - AOAC (2000).

2.2.2 Sólidos solúveis totais (SST)

Os sólidos solúveis dos vinhos foram determinados em homogenato, elaborado na proporção de 1:10 (5 ml de vinho para 45 ml de água destilada), utilizando-se refratômetro digital ATAGRO PR-100, com compensação automática de temperatura a 25 °C, previamente calibrado com água destilada. Os resultados foram expressos em °Brix, de acordo com a técnica da AOAC (2000).

2.2.3 Análise instrumental de cor

Para a avaliação da coloração dos vinhos foi utilizado o colorímetro Minolta, modelo CR 400, no sistema Commission Internationale d'Eclairage (CIE), pesquisando-se as coordenadas L*, a* e b*. A coordenada L* mede a claridade ou a luminosidade da amostra, variando entre o preto (0) e o branco (100). As coordenadas a* e b* definem a cromaticidade da amostra, sendo que o a* corresponde à variação de cor do vermelho ao verde e o b* indica a coloração da amostra no eixo azul-amarelo.

2.2.3.1 Índice de cor, intensidade corante, tonalidade

O índice de cor (IC), a intensidade corante e a tonalidade dos vinhos foram avaliados medindo-se diretamente a absorbância dos vinhos a 420, 520 e a 620 nm, utilizando-se células de quartzo de percurso óptico de 1 mm, num espectrofotômetro UV/Vis Shimadzu 265, tendo sido calculada pelas equações 1, 2 e 3:

$$\text{Índice de cor} = Abs\ 420 + Abs\ 520 + Abs\ 620 \quad (1)$$

$$\text{Intensidade corante} = Abs\ 420 + Abs\ 520 \quad (2)$$

$$\text{Tonalidade} = Abs\ 420 / Abs\ 520 \quad (3)$$

2.2.4 Antocianinas totais (AT)

O conteúdo de antocianinas totais foi determinado pelo método da diferença de pH (GIUSTI; WROSLTAD, 2001), em que se dissolve a amostra em dois sistemas-tampão: cloreto de potássio pH 1,0 (0,025M) e acetato de sódio pH 4,5 (0,4 M). Foram adicionados 2,5 mL da correspondente dissolução tampão pH=1,0 a 1,5 mL da amostra de vinho e 2,5 mL da dissolução tampão pH=4,5 a 1,5 mL da amostra de vinho (para se obter densidade óptica na faixa de 0,100-1,200, a 510 nm) e as soluções tiveram sua absorvância lida a 510 e 700 nm.

A absorvância foi calculada a partir da equação:

$$A = (A_{510nm} - A_{700nm})pH_{1,0} - (A_{500nm} - A_{700nm})pH_{4,5}$$

A concentração de pigmentos no extrato foi calculada e representada em cianidina-3-glicosídeo.

$$\text{Antocianinas (mg.l}^{-1}\text{)} = (A \times MM \times FD \times 1000) / (\epsilon \times l)$$

em que A = absorvância; MM = massa molecular; FD = fator de diluição e ϵ = absorvância molar.

2.2.5 Pigmentos polimerizados

Para a determinação dos pigmentos polimerizados utilizou-se a metodologia de Somer (BLOUIN, 1992). Os pigmentos polimerizados são pouco sensíveis às descolorações pelo anidrido sulfuroso, contrariamente às

formas livres de antocianinas. O anidrido sulfuroso, ao ocupar as posições 2 ou 4 da antocianina, leva à formação de estruturas sulfônicas que são incolores. Assim é possível calcular o índice de pigmentos polimerizados.

2.2.6 Taninos proantociânicos

A quantidade de taninos proantociânicos totais foi analisada diretamente nos vinhos, com base no método descrito na literatura (RIBÉREAU-GAYON; STONESTREET, 1966). Esta análise baseia-se na reação de decomposição dos taninos condensados (procianidinas e prodelfinidinas), que são compostos sem cor e que, em meio ácido e por ação do calor, libertam compostos corados, as antocianidinas.

2.2.7 Fenólicos totais

Para a obtenção do extrato, utilizaram-se 2 mL das amostras dos vinhos, aos quais foram adicionadas 20 mL de álcool metílico 50%. Essa mistura foi homogeneizada e deixada em repouso por 1 hora, à temperatura ambiente. Após este período, a mistura foi centrifugada, a 14.000 rpm, por 15 minutos. O sobrenadante foi coletado e foram adicionados 20 mL de acetona 70% ao resíduo, que foi homogeneizado e deixado em repouso por 1 hora, à temperatura ambiente. Em seguida, centrifugou-se, a 14.000 rpm, por 15 minutos. O sobrenadante foi coletado, adicionado ao primeiro sobrenadante e o volume foi completado para 50 mL com água destilada.

A determinação do teor de fenólicos totais foi feita pelo método proposto por Waterhouse (2002), empregando-se o reagente de Folin-Ciocalteu. Em resumo, 0,5 mL de extrato de cada amostra foram adicionados aos tubos contendo 2,5 mL de solução de Folin-Ciocalteu 10%. Em seguida, foram

adicionados 2 mL de solução de carbonato de sódio 4%. Os tubos foram agitados e deixados em repouso, por 2 horas, ao abrigo da luz. A cor azul produzida pela redução do reagente Folin-Ciocalteu pelos fenólicos foi medida espectrofotometricamente, na faixa de absorção de 750 nm. O cálculo do teor de fenólicos foi realizado a partir da equação da reta obtida da curva padrão do ácido gálico. Os resultados foram expressos em mg de equivalentes de ácido gálico por 100 g da amostra (mg EAG.100g⁻¹).

2.2.8 Atividade antioxidante total DPPH

Para a obtenção do extrato, seguiu-se o mesmo procedimento utilizado para os fenólicos totais.

A metodologia empregada na determinação da atividade antioxidante foi baseada na extinção da absorção do radical 2,2-difenil-1-picril hidrazil (DPPH 60 µM), proposta por Rufino et al. (2009), com algumas adaptações em relação ao cálculo, calculando-se o percentual de sequestro do radical DPPH a partir do padrão.

Foram adicionados 0,1 mL de cada extrato das amostras a 3,9 mL de solução de DPPH. Para o controle, foram adicionados 0,1 mL de metanol, juntamente ao DPPH, no lugar do extrato. As leituras foram realizadas após 120 minutos, em espectrofotômetro, a 515 nm e os resultados foram expressos em percentual de sequestro de radical livre (%SRL), conforme equação a seguir:

$$\%SRL = (Ac - Am) \times 100 / Ac$$

em que Ac = absorbância do controle e Am = absorbância da amostra

2.2.9 Aminas bioativas

Oito aminas bioativas foram determinadas, dentre elas, espermidina, putrescina, agmatina, cadaverina, serotonina, histamina, tiramina e feniletilamina. Estas aminas foram separadas por CLAE-par iônico em coluna de fase reversa, derivadas pós-coluna com *o*-ftalaldeído e quantificadas por fluorimetria a 340 nm de excitação e 445 nm de emissão (SOUZA et al., 2005).

2.2.10 Perfil volátil

As análises de extração e identificação dos compostos voláteis dos vinhos foram realizadas utilizando-se a técnica de microextração em fase sólida (SPME), em cromatógrafo gasoso acoplado ao espectrofotômetro de massas GC-2010-Gás Chromatograph Shimadzu e GCMS-QP2010 Plus-Gas Chromatograph Mass Spectrometer.

2.2.10.1 Extração dos compostos voláteis

O procedimento de extração envolveu a exposição da fibra de *polydimethylsiloxiane/divinilbenzene* (PDMS/DVB 65 µm, Supelco) ao *headspace* de cada amostra nos frascos de “vials” fechados. Preliminarmente às extrações, a fibra extratora foi condicionada, a 250°C, por 60 minutos, no cromatógrafo gasoso Varian CP-3800. Entre cada exposição das amostras, a fibra (PDMS/DVB) foi limpa e condicionada, à temperatura de 250 °C, por 30 minutos, no mesmo cromatógrafo.

Quatro mililitros de vinho foram transferidos para os “vials” com capacidade de 10 ml, os quais foram vedados com lacre de alumínio e septos de borracha faceados com teflon. Em seguida, foram levados para agitação à

velocidade constante de 500 rpm, a 30 °C, por 30 minutos. A fibra ficou exposta durante todo o período de agitação. Depois de decorrido o tempo, a seringa foi imediatamente levada ao injetor do GG-MS, no qual os compostos voláteis foram dessorvidos por dois minutos, a 250°C, em modo split, na razão de 1:5.

2.2.10.2 Identificação dos voláteis

A identificação dos voláteis foi feita utilizando-se aparelho Shimadzu CG-17A, com detector seletivo de massas modelo QP5050A, sob as seguintes condições operacionais: coluna capilar de sílica fundida de 30 m x 0,25 mm e 0,25 µm de espessura, tendo como fase estacionária 5% de difenil e 95% de polidimetilsiloxano (DBS); temperatura do injetor de 270 °C; programação da coluna com temperatura inicial de 35 °C, sendo acrescidos 4 °C a cada minuto, até atingir 270 °C; gás de arraste hélio, com 1,78 ml.min⁻¹ na coluna; no modo split com pressão inicial na coluna de 120,9 KPa. As condições do EM foram: detector seletivo de massas operando por impacto eletrônico e energia de impacto de 70 eV; velocidade de varredura 1000 m/z s⁻¹; intervalo de varredura de 0,5 fragmentos/segundos e fragmentos detectados de 29 Da e 600 Da.

Cada componente foi identificado pela comparação de seu espectro de massas com espectros existentes na literatura (ADAMS, 1995), com base nos espectros avaliados pelo banco de dados (Wiley 8. LIB e FFNSC.1.2.lib). Visto que não foram utilizados padrões para a confirmação da identidade dos compostos, estes foram considerados como tentativamente identificados.

2.2.11 Análise sensorial

As amostras foram avaliadas quanto à aceitação em relação aos atributos de cor, sabor, aroma e impressão global, utilizando a escala hedônica estruturada

de nove pontos, variando entre os termos hedônicos “desgostei extremamente (escore 1)” e “gostei extremamente (escore 9)”. A intenção de compra também foi avaliada utilizando-se uma escala que varia entre os extremos (5) certamente compraria a (1) certamente não compraria (Anexo 1) (MEILGAARD; CIVILLE; CARR, 1988).

A análise foi realizada em cabines individuais no Laboratório de Análise Sensorial da UFLA, com 52 provadores não treinados de ambos os sexos, com idade entre 20 e 40 anos, sendo diferentes os provadores para os vinhos tintos e suaves, não podendo haver uma comparação entre eles. Foram servidos aproximadamente 10 ml de cada amostra à temperatura ambiente, em taças de plástico descartáveis com capacidade de 50 ml.

Foram oferecidas a cada provador três amostras de vinhos, sendo os vinhos de amora codificados com os números centrais 1 e 2, os vinhos tintos 3 e 4 e os vinhos rosados 5 e 6.

2.3 Análise quimiométrica

Os dados da composição dos voláteis e aminas biogênicas foram submetidos à análise dos componentes principais (*principal component analysis*, ou PCA). Os dados foram pré-processados por autoescalamento antes das análises por PCA. A análise de componentes principais foi realizada no software R.

3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

3.1 pH e sólidos solúveis

Os dados referentes a pH e SST são reportados na Tabela 1.

Tabela 1 Teores médios de pH e sólidos solúveis totais (°BRIX) de vinhos

Variáveis	Amora seco	Amora suave	Tinto seco	Tinto suave	Rosé seco	Rosé suave
pH	3,03b	3,08ab	3,03b	3,03b	3,04b	3,12a
SST	5,15d	16,35b	4,33e	14,61c	4,28e	17,41a

Médias seguidas de mesma letra na linha não diferem entre si, pelo teste de Tukey, a 5% de significância

Observa-se que a bebida fermentada de amora suave não diferiu estatisticamente dos demais vinhos; já o vinho rosé suave foi significativamente diferente dos vinhos tinto seco e suave, amora seco e rosé seco. O valor médio de pH dos vinhos do presente estudo foi de 3,06.

Ao avaliar amostras de vinhos tintos comercializados na região metropolitana do Recife, Andrade et al. (2008) obtiveram pH médio de 3,98, para vinhos secos e de 3,30, para vinhos suaves. Silva et al. (1999), analisando vinhos secos e suaves produzidos em Minas Gerais, encontraram 3,44 e 3,55, respectivamente, portanto, acima dos encontrados neste trabalho.

O pH é uma das características mais importantes do vinho, pois, além de interferir na cor, exerce efeito pronunciado sobre o gosto. Vinhos com pH elevado são mais suscetíveis às alterações oxidativas e biológicas, uma vez que o teor de dióxido de enxofre ativo é proporcionalmente menor (AERNY, 1985).

Outros aspectos da fermentação, tais como crescimento de bactérias indesejáveis, solubilidade de proteínas e reações de escurecimento, também são influenciados pelo pH (MUNIZ et al, 2002).

Segundo dados encontrados na literatura, os vinhos brasileiros apresentam pH que varia de 3,0 até 3,6, dependendo do tipo de vinho (tinto ou branco), da cultivar e da safra (RIZZON; SALVADOR, 1987), dados que corroboram os deste estudo.

Ao avaliar as características físico-químicas de fermentado de amora cv. Tupy, Schmidt, Imparato e Silva, (2010) encontraram pH de 3,25, sendo este superior ao do presente estudo.

Quanto ao teor de sólidos solúveis totais, observou-se comportamento já esperado, visto que os vinhos suaves apresentaram maiores valores de sólidos solúveis quando comparados aos vinhos secos. Em se tratando dos vinhos suaves, o rosé apresentou os maiores valores de sólidos solúveis, seguido pela bebida fermentada de amora e do vinho tinto. Já em relação ao vinho seco, o que apresentou maior teor de sólidos solúveis foi a bebida fermentada de amora, seguido do vinho rosé e do tinto, que não diferiram estatisticamente.

3.2 Análise instrumental da cor

A coloração do vinho é considerada um importante indicador de qualidade, sendo, geralmente, o primeiro atributo sensorial observado pelo consumidor. Além disso, a tonalidade e a intensidade da cor dos vinhos podem fornecer informações a respeito da qualidade da matéria-prima empregada na elaboração.

Variações na coloração dos vinhos podem estar relacionadas com a cultivar de uva ou de amora empregadas na vinificação, além de sofrer influência do processo de vinificação adotado.

A coloração dos vinhos foi avaliada com base nos parâmetros L*, a*, b*, intensidade de cor, índice de cor e tonalidade, cujos resultados estão expressos na Tabela 2.

Tabela 2 Parâmetros de cor (L^* , a^* , b^*), intensidade de cor, índice de cor e tonalidade, identificados nos vinhos produzidos no Sul de Minas Gerais

Variáveis	Amora seco	Amora suave	Tinto seco	Tinto suave	Rosé seco	Rosé suave
L*	20,32 c	21,58c	12,21d	14,42d	51,53a	42,02b
a*	26,96ab	29,63a	18,98c	25,91b	4,90d	4,42d
b*	10,77b	14,19b	1,08c	2,55c	28,75a	27,74a
Intensidade de cor	6,04b	4,45c	6,64a	6,59a	0,92d	1,24d
Índice de cor	7,39a	5,09b	7,54a	7,58a	1,03c	1,39c
Tonalidade	1,40c	1,20d	0,91e	0,88e	1,86b	2,27a

Médias seguidas de mesma letra nas linhas não diferem entre si, pelo teste de Tukey, a 5% de significância

O parâmetro L^* permite avaliar a intensidade da cor da amostra, cujos valores variam do preto a branco. Os menores valores estão mais próximos da cor preta e os maiores valores mais próximos da cor branca. De acordo com os resultados, observa-se que amostras do vinho tinto apresentaram menores valores de L^* , sugerindo um vinho com coloração mais escura. Já a bebida fermentada de amora apresentaram valores intermediários entre o tinto e o rosé. Não houve diferença entre os valores de L^* para a bebida fermentada de amora seco e suave e entre os vinhos tinto seco e suave. No entanto, o vinho rosé seco foi significativamente superior ao rosé suave.

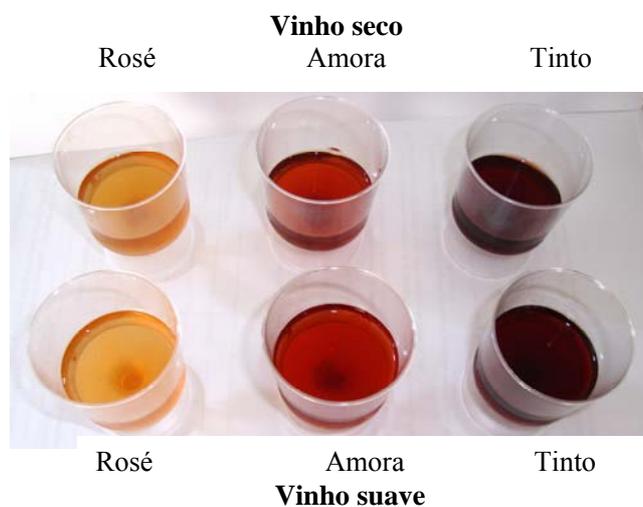


Figura 1 Aspecto visual dos vinhos rosé seco e suave, amora seco e suave e vinho tinto seco e suave

Considerando que a coloração dos vinhos é dada pelo seu conteúdo antociânico, é compreensível o fato de o vinho tinto elaborado com uvas ‘Bordô’ apresentarem luminosidade inferior, uma vez que estes vinhos mostraram os maiores níveis de antocianinas.

Andrade et al. (2008), ao avaliarem as características cromáticas de vinhos secos e suaves, observaram coloração mais intensa para os vinhos tintos secos e menos intensa para os suaves. De acordo com os mesmos autores, isto, provavelmente, é devido à maior quantidade de pigmentação natural existente nos vinhos secos.

As coordenadas de cromaticidade a^* e b^* indicam os dois eixos de cores antagônicas: o eixo a^* , que varia de verde a vermelho e o eixo b^* , que varia de azul a amarelo.

Pelos resultados, observa-se que a bebida fermentada de amora apresentou os maiores valores da variável a^* , sugerindo predominância da coloração avermelhada. Já o vinho tinto apresentou valores intermediários,

seguido pelo rosé, que apresentou os menores valores, supondo uma coloração menos avermelhada.

O aumento da coordenada cromática b^* indica um desvio da cor no sentido da tonalidade amarelada. De acordo com os resultados, observa-se que não houve diferença significativa entre os vinhos quanto aos atributos seco e suave, no entanto, pode-se observar diferença significativa entre a bebida fermentada de amora e os vinhos tinto e rosé, tendo este último apresentado os maiores valores.

Outra forma de avaliação cromática dos vinhos consiste na medida da absorvância nos comprimentos de onda 420 (amarelo), 520 (vermelho) e 620 (violeta).

O índice de cor é avaliado pelo somatório das absorvâncias registradas em 420, 520 e 620 nm, enquanto a tonalidade é avaliada pelo valor do quociente entre as absorvâncias em 420 e 520 nm (420/520) (GALLICE, 2010).

De acordo com os resultados, observou-se que o vinho tinto apresentou tanto maior intensidade de cor quanto maior índice de cor, diferindo significativamente dos demais vinhos, seguido da bebida fermentada de amora e do vinho rosé. Não foi identificada diferença quanto à intensidade de cor e ao índice de cor, avaliando-se os atributos seco e suave para os vinhos tinto e rosé. No entanto, observou-se que, para a bebida fermentada de amora seco, houve maior pigmentação, comparada ao seu respectivo suave.

Andrade et al. (2008) encontraram maior índice de cor nos vinhos tinto seco, quando comparado aos vinhos tinto suave, no entanto, no presente estudo, não foi observada diferença significativa, tanto para os vinhos tinto quanto o rosé.

Quanto à tonalidade, observou-se que os vinhos tintos apresentaram menores valores, não tendo havido diferença significativa entre o seco e o suave.

Este fato está relacionado a uma menor absorvância destes vinhos na região de 420 nm (amarelo) e um aumento na região do vermelho.

Em contrapartida, o vinho rosé apresentou os maiores valores e a bebida fermentada de amora, valores intermediários. Em ambos ocorreu distinção entre os atributos seco e suave.

3.3 Antocianinas totais, taninos proantociânicos, pigmentos polimerizados, fenólicos totais, % SRL

Os dados referentes a antocianinas totais, taninos proantociânicos, pigmentos polimerizados, fenólicos totais e porcentagem de sequestro de radical livre estão apresentados na Tabela 3.

Tabela 3 Teores médios de antocianinas totais (mg.L^{-1}), taninos proantociânicos (g.L^{-1}), pigmentos polimerizados (%), fenólicos totais (mg EAG.100ml^{-1}), % sequestro de radical livre (% SRL)

Variáveis	Amora seco	Amora suave	Tinto seco	Tinto suave	Rosé seco	Rosé suave
Antocianinas totais (mg.L^{-1})	80,40c	67,12d	145,64a	140,34b	2,80e	2,40e
Taninos proantociânicos (g.L^{-1})	0,57d	0,76c	1,05b	1,32a	0,18e	0,47d
Pigmentos polimerizados (%)	94,80a	89,91a	80,34b	79,48b	64,59c	56,43c
Fenólicos totais (mg EAG.100ml^{-1})	51,12c	58,76b	73,81a	75,74a	22,12d	23,65d
% SRL	20,90a	20,69a	22,31a	22,70a	5,05b	7,45b

Médias seguidas de mesma letra nas linhas não diferem entre si, pelo teste de Tukey, a 5% de significância

Os polifenóis dos vinhos participam da intensidade de cor, da tonalidade e das características gustativas, como a adstringência. Devido à grande reatividade química, eles exercem papel importante na qualidade em todas as etapas da elaboração, maceração, fermentação alcoólica, prensagem e maturação do vinho, além de participar na combinação do dióxido de enxofre. Possuem

propriedades bactericidas, antioxidantes, vitamínicas e protegem os consumidores das doenças cardiovasculares (PIZZATO, 2000).

De acordo com os resultados, observa-se que o vinho tinto seco apresentou o maior conteúdo de antocianinas, seguido pelo tinto suave. O conteúdo de antocianinas da bebida fermentada de amora foi muito inferior ao do vinho elaborado com uvas cv. Bordô, porém, ainda foi superior ao do vinho rosé, que apresentou os menores valores. Observou-se maior teor de antocianinas totais nos vinhos tinto seco e na bebida fermentada de amora seca, quando comparados aos vinhos tinto suave e amora suave.

Ao avaliar o conteúdo de antocianinas de vinho elaborado com uvas da cv. Bordô, Tecchio et al. (2007) encontraram teor de antocianinas totais variando de 493,1 a 878,4 mg.L⁻¹, resultados superiores ao deste estudo.

O conteúdo de antocianinas encontradas nos vinhos elaborados com uvas cv. Isabel diferiram entre as safras, com valores oscilando entre 97 a 265 mg.L⁻¹ (RIZZON; MIELE; MENEGUZZO, 2000). As antocianinas são substâncias reconhecidas como pigmentos naturais que conferem a coloração arroxeada às uvas e às amoras, havendo, normalmente, correlação positiva com a intensidade de cor.

Diversas condições do processamento da uva interferem no conteúdo e na estabilidade das antocianinas. Processos de extração que adotam o esmagamento vigoroso das bagas aumentam a extração e a difusão das antocianinas. Contudo, sensorialmente, esta técnica pode resultar em um produto mais adstringente e amargo. Esta variação nos conteúdos de antocianinas pode também estar relacionada ao processo de vinificação, à região de cultivo das uvas e ao manejo agrônômico.

Em estudo no qual foi avaliado o teor de antocianinas em fermentados elaborados com mirtilos, Sanchez-Moreno, Cao e Prior, (2003) constataram que os níveis variaram entre 14,7-170,17 mg.L⁻¹.

Teores de antocianinas de amoras-pretas (*R. eubatus*) cv. Brazos, produzidas na Estação Experimental EPAMIG/FECD, em Minas Gerais, apresentaram de 116 a 194 mg de antocianinas/100 g⁻¹ de peso fresco. Os flavonoides antociânicos, sendo cianidina-3-glicosídeo e cianidina-3-rutinosídeo, foram os mais representativos (MAATA-RIIHINENN; KAMAL-ELDIN; TÖRRÖNEN, 2004).

Não há relatos, na literatura, quanto ao teor de antocianinas totais em bebida fermentada de amora. No entanto, sabe-se que este teor pode sofrer influência significativa do tipo de cultivar a ser utilizada, do tipo de fermentação, da maturação dos frutos e das condições climáticas e agrônômicas.

De acordo com os resultados, observa-se que o vinho tinto apresentou os maiores valores de taninos proantociânicos, seguido pela bebida fermentada de amora e, posteriormente, pelo vinho rosé. Observou-se que houve diferença entre todos os vinhos quanto aos atributos seco e suave.

Os taninos presentes na uva e nos vinhos são os taninos condensados, os polímeros de 3-flavanóis (catequinas) e os 3-4-flavanodiolis (proantocianidinas). Na uva, os teores de taninos dependem da variedade, do estágio de maturação e da região produtora, sendo que, até o início da maturação da uva, o teor de taninos da baga alcança o máximo, diminuindo fortemente a partir da mudança de cor (ÁVILA, 2002). Nos vinhos, os teores de taninos variam em função da temperatura de fermentação, da duração da maceração e do número de remontagens realizadas (PIZZATO, 2000).

Em trabalho realizado por Rizzon, Miele e Meneguzzo (2000), vinhos da cv. Bordô apresentaram valores de taninos proantociânicos entre 0,89 a 1,95g/L, valores semelhantes aos encontrados no presente estudo. É importante ressaltar que os taninos são grande interesse enológico, principalmente devido à sua polimerização e precipitação durante a evolução dos vinhos, além dos processos

de oxiredução que interferem diretamente na cor dos mesmos (BERSELLI, 1998).

De acordo com os resultados, não houve diferença significativa entre os teores de pigmentos polimerizados dos vinhos tinto suave e seco, da bebida fermentada de amora suave e seco e rosé suave e seco, embora a bebida fermentada de amora tenham apresentados os maiores valores. As maiores porcentagens de pigmentos polimerizados encontrados na bebida fermentada de amora estão associadas, possivelmente, a um maior número de polimerizações entre taninos, antocianinas e outras moléculas de baixo peso molecular.

De modo geral, as transformações químicas envolvidas na formação de pigmentos derivados das antocianinas foram, inicialmente, descritas como sendo, essencialmente, a partir da condensação das antocianinas com os 3-flavanois, na presença ou na ausência de acetaldeído. A copolimerização entre os 3-flavanois e as antocianinas leva à formação de novos pigmentos com propriedades cromáticas distintas. No entanto, durante os últimos anos, novas famílias de pigmentos, nomeadamente as piranoantocianinas, foram identificadas e sabe-se que resultam da reação entre as antocianinas e moléculas menores, como o acetaldeído (BAKKER; TIMBERLAKE, 1997), o ácido acetoacético (HE et al., 2006), o ácido pirúvico (FULCRAND et al., 1998), o vinilfenol (FULCRAND et al., 1996), o vinilguaicol (HAYASAKA; ASENSTORFER, 2002), o vinilcatecol (SCHWARZ; JERZ; WINTERHALTER, 2003) e a vinilcatequina (CRUZ et al., 2008).

Os teores de fenólicos totais encontrados nos vinhos tinto seco e suave foram semelhantes, no entanto, significativamente distintos da bebida fermentada de amora e dos vinhos rosés. A bebida fermentada de amora seca e suave diferiram significativamente, tendo o vinho suave apresentado valores significativamente superiores. Os vinhos rosés apresentaram os menores

conteúdos de fenólicos totais, não diferindo quanto aos atributos seco e suave (Tabela 3).

Como é conhecido, as quantidades de compostos fenólicos variam consideravelmente em tipos diferentes de vinhos, o que depende da variedade da uva, de fatores ambientais no vinhedo, das técnicas de processamento do vinho e do processo de produção e maturação (LI et al., 2009).

Tecchio (2007), ao avaliar o conteúdo de polifenóis totais do vinho tinto elaborado com uvas da cv. Bordô de Flores da Cunha, encontrou valores entre 48,5 a 110,9 g EAG.L⁻¹. Em trabalho desenvolvido com a cultivar Isabel, Rizzon, Miele e Meneguzzo (2000) observaram que os valores variaram entre 19,4 a 30,4 g EAG.L⁻¹, o que revela que a cultivar Bordô apresenta teores mais elevados desses componentes.

Sanchez-Moreno, Gao e Prior (2003) determinaram o conteúdo de polifenóis totais em vinho branco, tinto e vinho de mirtilo. Estes autores observaram que o conteúdo de fenólicos totais no vinho branco foi significativamente inferior ao encontrado no vinho de mirtilo. O vinho tinto (1.644 mg. EAG.L⁻¹) apresentou valores de fenólicos totais superiores ao do vinho de mirtilo (1.361 mg EAG.L⁻¹).

De acordo com Rufino et al. (2009), alimentos que têm, naturalmente, em sua composição, substâncias com caráter antioxidante, têm atraído o interesse da comunidade científica devido aos possíveis efeitos nutricionais e terapêuticos associados a seu consumo. É reconhecido que, além de os antioxidantes naturais exercerem papel na defesa endógena de plantas, sua inserção na dieta confere proteção contra diversos eventos patológicos.

De acordo com os resultados encontrados observa-se que não houve diferença na atividade sequestrante de radical livre dos vinhos tintos da uva cv. Bordô (suave e seco) e bebida fermentada de amora cv. Brazos (suave e seco),

no entanto, os vinhos rosé apresentaram atividade sequestrante de radical livre inferior à dos demais.

Este fato pode justificar que, embora a bebida fermentada de amora tenha apresentado baixo teor de antocianinas, outros constituintes podem estar contribuindo para elevar sua atividade antioxidante, visto que esta foi semelhante à do vinho tinto elaborado com uvas da cv. Bordô.

A superioridade antioxidante da cultivar Bordô foi confirmada por estudos realizados por Dani et al. (2007), cuja quantidade de suco necessária para reduzir em 50% a concentração inicial de DPPH foi acentuadamente menor em comparação com o mesmo teste feito para o suco elaborado com uvas 'Niágara'.

Hassimoto, Genovese e Lajolo (2005), avaliando a capacidade antioxidante de frutas, vegetais e polpas de frutas, observaram maior capacidade de sequestro de radical livre em amostras contendo maior conteúdo de antocianinas. A mesma relação foi demonstrada por Munõz-Espada et al. (2004), avaliando as cultivares de *Vitis vinifera* e *Vitis labrusca*, nas quais observaram associação positiva entre o conteúdo de antocianinas e a capacidade antioxidante pelo método de sequestro de radicais livres do DPPH.

Por outro lado, Kallithraka et al. (2005) não encontraram correlação estatística significativa avaliando antocianinas totais e capacidade antioxidante, ressaltando a importância de outros constituintes da uva. Catequinas e epicatequinas, por exemplo, têm demonstrado alta capacidade antioxidante e inibição da proliferação celular.

Cabe ressaltar que a atividade antioxidante apresentada pelos vinhos tintos é capaz de promover diversos efeitos positivos sobre a saúde, os quais incluem agregação plaquetária, proteção da lipoproteína LDL contra reações oxidativas, redução do risco de doenças coronarianas e controle dos níveis pressóricos (DAL BOSCO, 2006).

Como uma forma de visualização global destes resultados apresenta-se a análise de componentes principais no Gráfico 1.

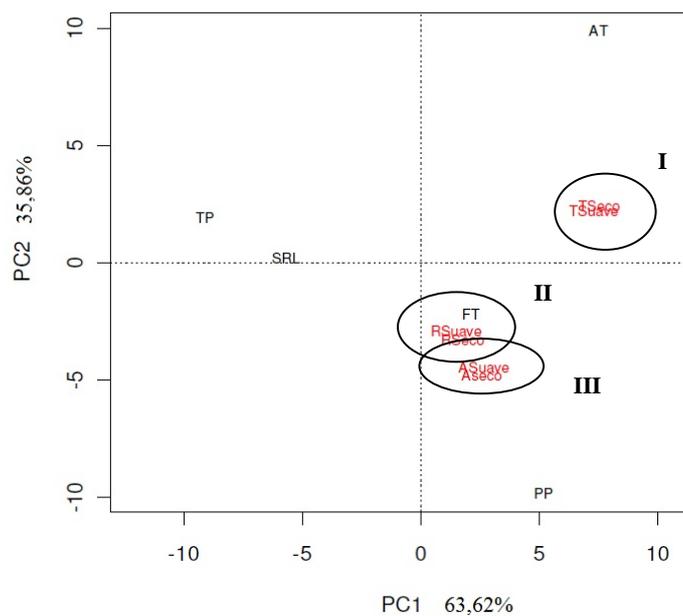


Gráfico 1 Análise de componente principais (PCA) TP = taninos proantociânicos; AT = antocianinas totais; FT = fenólicos totais; PP = pigmentos polimerizados

No Gráfico 1 observam-se tanto os escores, nos quais os dois primeiros componentes principais foram responsáveis por explicar 99,48% da variabilidade total presente no conjunto de dados, quanto evidencia os pesos que revelam a relação entre as amostras pelos compostos funcionais identificados nos vinhos avaliados.

A análise dos dados químicos pela técnica de PCA permitiu agrupar quimicamente as amostras em três grupos, sendo eles: o primeiro, composto pelo

vinho tinto seco e suave da cultivar Bordô; o segundo, pelo vinho rosé seco e suave e o terceiro, pela bebida fermentada de amora seco e suave.

Observa-se que as amostras do primeiro grupo ficaram mais próximas devido à similaridade dos teores de antocianinas totais, que foi bem superior à dos demais, como já foi discutido anteriormente (Tabela 3). Já o segundo e o terceiro grupo se distanciaram mais do primeiro por apresentarem quantidades de fenólicos totais mais próximas. Contudo, o segundo e o terceiro grupo se distinguiram exatamente por esta quantidade de fenólicos totais, visto que o segundo grupo apresenta teores menores que o terceiro grupo (Tabela 3).

3.4 Aminas biogênicas

Os vinhos, assim como outros alimentos fermentados, são o substrato ideal para a produção de aminas bioativas. Altos teores destas, além de tornar o produto inadequado ao consumo, devido a efeitos toxicológicos, podem afetar significativamente o sabor e o aroma. Além disso, podem representar barreiras em transações comerciais (KALAC; GLÓRIA, 2009).

Algumas aminas são constituintes normais de uvas, com quantidades dependentes da variedade da uva e do grau de maturação, assim como de tipos e da composição do solo, além das práticas de cultivo e das condições climáticas (GLÓRIA; VIEIRA, 2007).

As condições que favorecem a ocorrência de aminas biogênicas em vinhos dependem do tempo de contato do mosto com a casca das uvas, do teor de aminoácidos presente na fase inicial e final da fermentação alcoólica e do tempo de contato com a levedura. As técnicas de vinificação também podem contribuir para aumentar o teor de aminas biogênicas em vinhos (MARQUES; LEITÃO; SAN ROMÃO, 2008).

Pelos resultados observa-se que, em geral, a amina biogênica putrescina foi a dominante em todos os vinhos, tendo o vinho tinto apresentado os maiores valores, seguido pela bebida fermentada de amora e vinho rosé.

Tabela 4 Teores médios de amins biogênicas ($\mu\text{g.mL}$) em vinhos tintos, rosé e de amora produzidos no sul de Minas Gerais

Vinhos	Amins biogênicas							
	PUT ¹	CAD ²	HIS ³	TIR ⁴	SER ⁵	ESP ⁶	FEN ⁷	AGM ⁸
Rose seco	3,05	0,43	ND	1,72	ND	0,43	ND	ND
Rose suave	3,33	0,15	1,32	7,51	ND	ND	0,19	ND
Tinto seco	7,81	0,32	6,12	5,9	ND	0,3	ND	0,66
Tinto suave	7,31	0,28	5,85	5,5	ND	0,29	ND	0,7
Amora seco	4,39	0,15	2,99	7,3	ND	ND	0,18	ND
Amora suave	5,95	0,65	4,48	7,58	ND	1,12	0,13	0,46

1- PUT- putrescina; 2-CAD- cadaverina; 3-HIS- histamina; 4-TIR- tiramina; 5-SER- serotonina; 6-ESP- espermidina; 7-FEN- feniletilamina; 8-AGM- agmatina

Um alto teor de putrescina nos vinhos tintos e na bebida fermentada de amora pode estar relacionado à estação seca durante o cultivo dos frutos, ocasionando estresse hídrico, ou pode facilitar deficiência de potássio o que provoca um aumento nos teores de putrescina (GLÓRIA; VIEIRA, 2007).

Com relação aos teores de cadaverina, observa-se a presença desta em todos os vinhos avaliados, tendo o seu conteúdo sofrido pequena variação entre os vinhos. No trabalho de Sabaini (2009), os teores de cadaverina em vinhos tintos e rosé adquiridos no mercado de Belo Horizonte, MG variaram de não detectável, ou seja, abaixo $0,2 \text{ mg.L}^{-1}$, a até $0,69 \text{ mg.L}^{-1}$.

A cadaverina e a putrescina podem ser formadas por microrganismos intencionalmente adicionados para as fermentações ou contaminantes presentes (GLÓRIA; VIEIRA, 2007).

A histamina e a tiramina também apresentaram forte contribuição quanto ao teor de amins biogênicas totais. De acordo com Martín-Álvarez et al. (2006), concentrações menores de histamina e tiramina foram observadas em vinhos produzidos com menos de 10 dias de maceração, ao passo que, em

vinhos elaborados com tempos de maceração mais longos, teores duas a quatro vezes maiores desta amina foram obtidos.

Embora a legislação brasileira ainda não estabeleça um limite para a concentração de amins nos vinhos, países como a Suíça recomendam um nível máximo de 10 mg.L^{-1} de histamina; a Alemanha, 2 mg.L^{-1} ; a Bélgica, 5 mg.L^{-1} ; e a França, 8 mg.L^{-1} (LEHTONEN, 1996).

Tratando-se da espermidina, não foi observada sua presença em vinhos rosé suave e bebida fermentada de amora seca. De acordo com Bover-Cid et al. (2006), os teores de espermidina nulos durante a fermentação alcoólica, podem ser explicados pelo consumo desta por leveduras álcool fermentativas.

Vinhos tinto e bebida fermentada de amora suave apresentaram a amina biogênica agmatina em sua constituição, sendo estas precursoras das poliaminas via arginina (PANG et al., 2007). A feniletilamina esteve presente na bebida fermentada de amora e no vinho rosé suave, podendo sua concentração ser exaltada pelo dano ao fruto por algum agente contaminante (ÉDER; BRANDES; PAAR, 2002).

Não foi detectada a presença de serotonina nos vinhos avaliados, neste trabalho. Mota et al. (2009), ao avaliarem o teor de serotonina em vinhos da cv. Syrah I, perceberam uma variação desta amina em relação à época de colheita do fruto, estando presente nos vinhos elaborados com uvas colhidas no verão e no inverno de 2005 e ausente no vinho das uvas colhidas no verão e no inverno de 2006.

As diferenças no perfil de amins entre os vinhos são atribuídas, principalmente, às condições edafoclimáticas, que podem afetar os teores de aminoácidos livres (HERBERT et al., 2006) e também à diversidade de microrganismos presentes no vinho, principalmente leveduras e bactérias que são naturalmente selecionadas a cada ano (MARTÍN-ÁLVAREZ et al. 2006).

As enzimas comerciais pectinolíticas utilizadas na produção de vinho para aumentar a produção de suco, facilitar a prensagem e filtragem e proporcionar maior clareza para mostos e vinhos podem, em alguns casos, produzir, concomitantemente, importante atividade proteolítica, o que pode levar à hidrólise de proteínas e peptídeos e à liberação de aminoácidos (FERRER; PARDO, 2011), contribuindo para aumentar a quantidade de amins biogênicas no vinho.

Em razão da alta complexidade do estudo de amins biogênicas, optou-se por um estudo estatístico das amostras, utilizando-se a análise de componentes principais (PCA), no intuito de elucidar características relacionadas com os resultados das análises cromatográficas, correlacionando e agrupando os dados dos componentes químicos em relação a seus percentuais nos respectivos vinhos analisados (Gráfico 2).

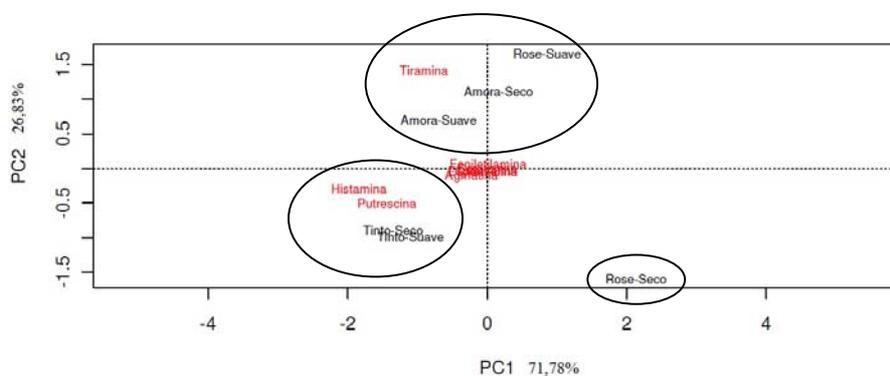


Gráfico 2 Análise de componente principal para amins biogênicas avaliadas em vinhos tinto de uva cv. Bordô, vinhos de amora e vinho rosé cv. Niágara

A PCA mostrou que, com a primeira componente principal e a segunda componente principal, foi possível descrever 98,61% da variância total obtida no conjunto de dados. Pela posição das amostras no gráfico de PCA, as amins

cadaverina, serotonina, agmatina, espermidina e feniletilamina não foram decisivas na separação de grupos de amostras.

Percebe-se a distinção de um grupo de amostras composto pelos vinhos tintos seco e suave. Esta separação se deu pelo fato de estas amostras apresentarem um maior conteúdo das aminas histamina e putrescina que as demais avaliadas (Gráfico 2, Tabela 4).

Um segundo grupo de amostras formou-se da união da bebida fermentada de amora suave e seco e vinho rosé suave. A distinção destas amostras baseia-se nos níveis de tiramina que estas apresentaram, sendo estas maiores do que nas demais amostras (Tabela 4, Gráfico 1).

Já a amostra de vinho rosé seco foi diferente das demais por apresentar comportamento, em relação às aminas biogênicas estudadas, bem diferente das outras amostras avaliadas. Sendo assim, pode-se inferir que a separação das amostras foi baseada, principalmente, nos teores da histamina, tiramina e putrescina.

De acordo com Martín-Álvarez et al. (2006), histamina, tiramina e putrescina foram as aminas afetadas pelo maior número de fatores durante a prática enológica, o que pode explicar porque estas foram as mais importantes e mais frequentemente detectadas nos vinhos, corroborando os dados do presente estudo.

3.5 Perfil volátil

Os compostos tentativamente identificados no vinho tinto, bebida fermentada de amora e no vinho rosé são mostrados na Tabela 5, com seus respectivos tempos de retenção e suas porcentagens de área de pico relativo.

Tabela 5 Perfil volátil de vinhos produzidos no Sul de Minas Gerais

Compostos*	TR*	Área Relativa do Pico (%)					
		Amora seco	Amora suave	Tinto seco	Tinto suave	Rose seco	Rose suave
Alcoóis							
Etanol	1,32	93,45	91,03	95,6	87,61	100,0	87,0
1-pentanol	3,01	Nd	Nd	3,22	20,07	Nd	Nd
3 metil-1-butanol	3,14	20,60	18,12	10,11	9,01	8,65	7,03
Ciclopentanol	21,67	11,02	13,18	Nd	Nd	Nd	Nd
Undecanol	26,24	4,78	2,21	Nd	Nd	Nd	Nd
1-dodecanol	26,25	1,21	2,20	Nd	Nd	Nd	Nd
Hexan-3-ol	26,29	0,56	0,32	0,67	0,19	0,31	0,15
(+)-Nerolidol	28,93	Nd	8,78	4,50	8,56	4,65	3,60
3,7,11-trimetildodeca-1,6,10-trien-3-ol	28,93	16,74	Nd	Nd	Nd	Nd	Nd
(-)-Espatulanol	29,29	5,01	6,41	3,82	7,94	3,48	3,36
Éster							
Acetato	3,41	0,18	0,15	0,28	0,32	11,77	12,89
Isopentenil acetato	6,18	1,95	1,23	2,58	2,30	7,49	19,72
Etil hexanoato	10,13	0,56	1,82	1,12	Nd	4,05	1,32
Etil octanoato	17,18	2,56	6,75	2,33	2,25	6,44	1,98
Etilundecanoato	23,83	0,28	3,69	0,12	1,14	0,09	0,1
Metildecanoato	27,74	0,74	Nd	Nd	Nd	Nd	Nd
Ácido tetradecanoico, 1-metil éster	30,79	0,95	Nd	Nd	Nd	Nd	Nd
Metil 4-butoxi-N-hidroxibenzenocarboximidoato	7,35	Nd	Nd	Nd	1,13	2,89	2,16
Terpenos							
Cicloheptano, 4-metileno-1-metil-2-(2-metil-1-propen-1-il)	24,88	6,67	Nd	Nd	Nd	Nd	Nd
2,5,6-Trimetil-1,3,6-heptatrieno	26,90	9,12	Nd	4,81	Nd	Nd	Nd
(z)- β -elemene	23,37	2,28	2,98	0,94	2,08	0,76	4,09
Cis-caryophyllene	24,21	8,66	Nd	3,54	8,02	3,89	Nd
Azulene	26,55	Nd	2,63	Nd	Nd	Nd	Nd
β -eudesmene	26,58	Nd	Nd	Nd	2,75	1,00	Nd
Beta-selinene	26,58	Nd	Nd	1,25	Nd	1,71	Nd
Biciclogermacreno	26,85	Nd	9,02	Nd	8,95	5,22	3,98
(+)-Ledeno	31,05	Nd	0,41	Nd	Nd	2,00	Nd

tentativamente identificados por comparação dos seus espectros de massas com o banco existente na literatura (Wiley 8.LIB e FFNSC. 1.2 lib); TR: Tempo de retenção; Nd: não detectado

Para comparar os compostos voláteis das amostras de vinho, as áreas dos picos foram normalizadas usando-se o maior pico das amostras, sendo este o etanol encontrado no vinho rosé seco. Este recebeu um valor de 100 que foi utilizado para normalizar os outros picos em todas as seis amostras.

Foi possível observar que a temperatura de 30 °C, com 30 minutos de exposição à fibra PDMS, foi suficiente para detectar:

- dezenove compostos no vinho de amora seco, tendo estes sido representados por 42% compostos alcoóis, 37% ésteres e 21% terpenos;
- dezessete compostos no vinho de amora suave, tendo estes sido representados por 47,1% de alcoóis, 29,4% de ésteres e 23,5% de terpenos;
- quinze compostos no tinto seco, tendo estes sido representados por 40% de alcoóis, 33,3% de ésteres e 26,7% de terpenos;
- quinze compostos no tinto suave, tendo estes sido representados por 40% de alcoóis, 33,3% de ésteres e 26,7% de terpenos;
- dezessete compostos no rosé seco, tendo estes sido representados por 35,3% de ésteres, 35,3% de terpenos e 29,4% de alcoóis;
- treze compostos no rosé suave, tendo estes sido representados por 46,1% de ésteres, 38,5% de alcoóis e 15,4% de terpenos.

Observa-se que os compostos alcoóis foram os constituintes de maior representação, seguidos, respectivamente, pelos ésteres e terpenos, tanto nos vinhos tinto cv. Bordô, quanto nos vinhos de amora. Já nos vinhos rosé, os compostos com maior representação foram os ésteres.

Alcoóis superiores são importantes componentes do aroma, que são liberados no meio como produto secundário do metabolismo de leveduras. Os alcoóis que se apresentaram em todas as amostras avaliadas foram o etanol, o 3 metil-1 butanol, o ciclopentanol e o hexan-3-ol.

Grbz et al. (2006) fizeram uma comparação entre os compostos voláteis encontrados no vinho obtidos de uvas cv. Cabernet e cv. Merlot. Segundo estes

autores, dos 66 compostos voláteis identificados por CG-MS, 28 foram ésteres e 19 foram alcoóis, enquanto 81-88% da área total do cromatograma foram compostos por picos, incluindo, octanoato etílico, decanoato de etila, 3-metil-1-butil acetato (acetato de isoamila), hexanoato etílico, dietil succinato e 2-feniletanol. Alguns destes compostos mencionados foram encontrados neste trabalho.

Acetatos são produzidos a partir da reação da acetil-CoA com alcoóis superiores que são formados a partir da degradação de aminoácidos e carboidratos (PERESTRELO et al., 2006). Para Plata et al. (2003), a presença de isopentenil acetato obtido na fermentação espontânea dos vinhos pode ser devido à presença de leveduras no mosto que sintetizam esse éster.

Os ésteres voláteis são gerados a partir da esterificação dos alcoóis e acil-CoA derivados tanto do ácido graxo como do metabolismo de aminoácidos, em uma reação catalisada pela enzima álcool aciltransferase (AAT, EC 2.3.1.84) (SANZ; OLIAS; PEREZ, 1997). Eles são importantes constituintes do perfil volátil de muitas frutas, caracterizando o aroma frutal, estando normalmente associado a ésteres de 3 a 8 átomos de carbono (ROSSIER, 1996).

A concentração destes ésteres é dependente de vários fatores, incluindo cepa de levedura, temperatura de fermentação, aeração e teor de açúcar (PERESTRELO et al., 2006). Os principais ésteres encontrados no perfil volátil dos vinhos do presente estudo foram: hexanoato de etila, octanoato etílico e decanoato de etila. Esses compostos são ésteres etílicos responsáveis pelo aroma "frutado" e "floral" dos vinhos (LI et al., 2009).

Monoterpenos são componentes produzidos a partir de um precursor comum, o geranyl pirofosfato, cuja biossíntese começa com acetil-CoA (KING; DICKINSON, 2000). Em numerosos estudos tem sido relatado que os compostos terpenoides podem ser utilizados para caracterizar as variedades de frutas ou de uvas.

Alguns terpenos, como (z)- β -elemene, cis-caryophyllene, biciclogermacreno e (+)-nerolidol, são contribuintes importantes para o aroma de vinho, apresentando baixo limiar de percepção, no entanto, contribuem para traçar o perfil volátil destes.

Para finalizar a discussão dos voláteis, procedeu-se à análise de componentes principais (PCA), na tentativa de identificar semelhanças e diferenças entre os vinhos (Gráfico 3)

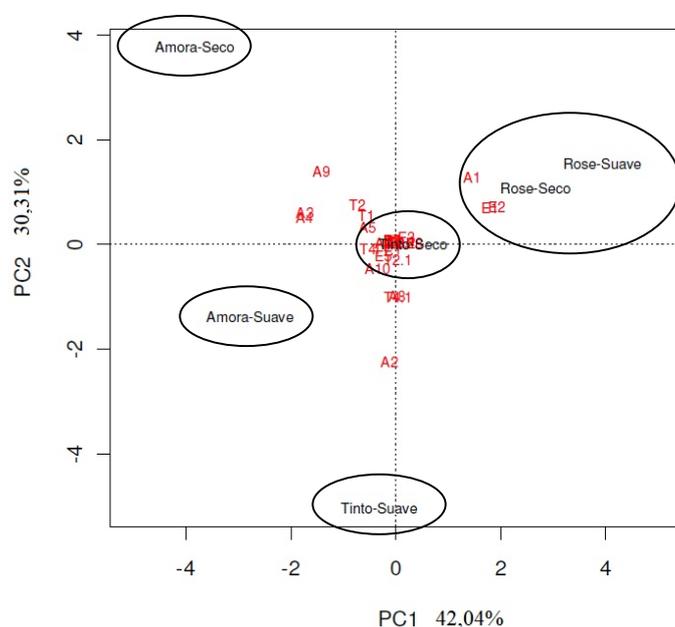


Gráfico 3 Análise de componente principal para compostos voláteis encontrados nos vinhos. A1: etanol; A2: 1-pentanol; A3: 3 metil-1-butanol; A4: ciclopentanol; A5: undecanol; A6:1-dodecanol; A7: hexan-3-ol; A8: (+)-nerolidol; A9: 3,7,11-trimetildodeca-1,6,10-trien-3-ol; A10: (-)-espatulenol; E1: acetato; E2: isopentenil acetato; E3: etil hexanoato; E4: etil octanoato; E5: etilundodecanoato; E6: metildecanoato; E7: ácido tetradecanoico, 1-metil éster; E8: metil 4-butoxi-N-hidroxibenzenocarboximidoato; T1: ciclo-heptano, 4-metileno-1-metil-2-(2-metil-1-propen-1-il); T2: 2,5,6-trimetil-1,3,6-heptatrieno; T3: (z)- β -elemene; T4: cis-caryophyllene; T5: azulene; T6: β -eudesmene; T7: beta-selinene; T8: biciclogermacreno; T9: (+)-ledeno.

Pode-se verificar a distinção de cinco grupos de amostras, sendo o primeiro formado pelos vinhos rosé, suave e seco; o segundo, pela amostra de vinho tinto suave; o terceiro, pela amostra de vinho tinto seco; o quarto, pela amostra de bebida fermentada de amora suave e o quinto, pela amostra de bebida fermentada de amora seca.

A amostra de tinto suave se distinguiu das demais pela pronunciada concentração do composto 1-pentanol encontrada.

A bebida fermentada de amora seca foi a única a apresentar porcentagem do composto 3,7,11-trimetildodeca-1,6,10-trien-3-ol e isso contribuiu para a sua diferenciação dos demais vinhos.

Os vinhos rosés se agruparam devido à semelhança existente, dada as altas porcentagens de área relativa dos compostos acetato e isopentenil acetato.

Tanto o grupo que contém a bebida fermentada de amora suave quanto o grupo da amostra de vinho tinto seco não apresentaram compostos que se ressaltaram, fazendo com que estes não se agrupassem nos outros grupos encontrados.

3.6 Análise sensorial

Os resultados da análise sensorial são apresentados na Tabela 6 e 7. Foram significativos ($p \leq 0,05$) os efeitos das médias dos diferentes vinhos (seco e suave), nos diversos atributos sensoriais (aparência, aroma, sabor e impressão global).

Tabela 6 Valores das médias dos atributos sensoriais para o vinho seco

Vinho seco	Aparência	Aroma	Sabor	Impressão global
Amora	5,17b	4,42c	4,09b	4,38b
Tinto	7,73a	6,73a	5,88a	6,09a
Rosé	4,90b	5,75b	4,15b	4,55b

Médias seguidas de mesma letra nas colunas não diferem entre si, pelo teste de Tukey, a 5% de significância

Tabela 7 Valores das médias dos atributos sensoriais para o vinho suave

Vinho suave	Aparência	Aroma	Sabor	Impressão global
Amora	6,01b	5,56b	5,60b	5,81b
Tinto	8,03a	7,00a	7,07a	7,28a
Rosé	5,71b	6,54a	6,32ab	6,35b

Médias seguidas de mesma letra nas colunas não diferem entre si, pelo teste de Tukey, a 5% de significância

O vinho tinto seco apresentou diferença significativa em relação aos demais, quanto aos atributos aparência, aroma, sabor e impressão global. Para todos estes atributos, com exceção do atributo aroma, a bebida fermentada de amora e o vinho rosé não se diferiram significativamente (Tabela 6).

Quanto ao vinho suave observa-se um comportamento semelhante ao vinho seco. O vinho tinto também diferiu significativamente do vinho de amora e rosé em todos os atributos. Exceção se faz ao quesito sabor, pois o vinho tinto e o vinho rosé não se diferenciaram significativamente (Tabela 7). A bebida fermentada de amora suave e o vinho rosé suave foram estatisticamente semelhantes em relação à aparência, sabor e impressão global.

Pelos histogramas dos vinhos seco verifica-se que, para os atributos aparência, sabor, aroma e impressão global, a maior frequência de notas de 6 a 9 (6 - gostei ligeiramente a 9 - gostei extremamente) foi atribuída ao vinho tinto (Figura 2 e 3).

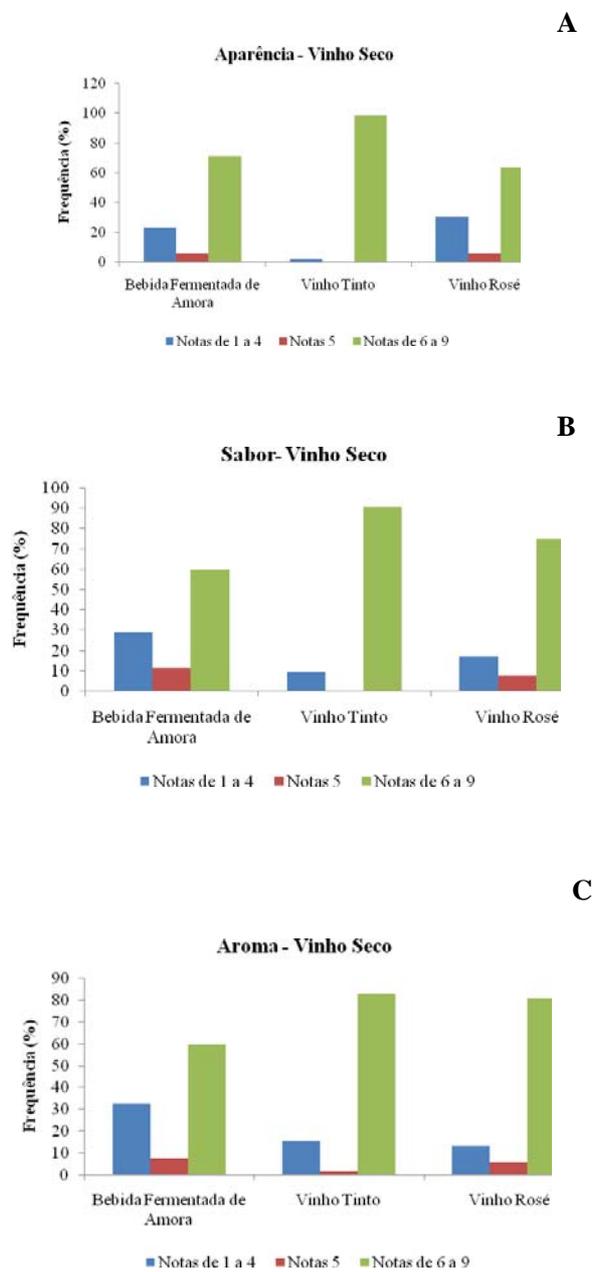


Figura 2 Histogramas de frequência dos valores atribuídos à aparência (A), sabor (B) e aroma (C) em vinho seco

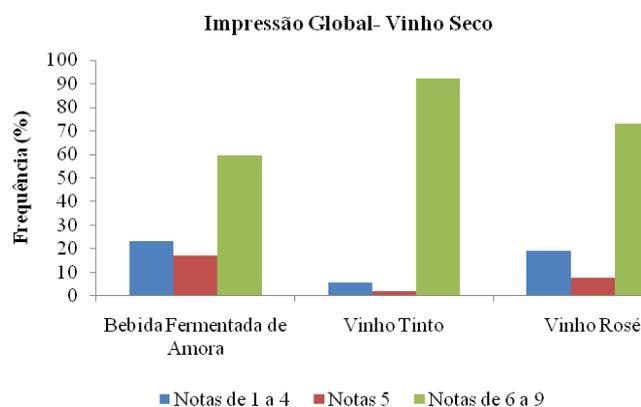


Figura 3 Histograma de frequência dos valores atribuídos impressão global

A bebida fermentada de amora seco apresentou maior frequência de notas entre a escala (1 - desgostei extremamente a 4 - desgostei ligeiramente), para os atributos sabor, aroma e impressão global (Figura 2 e 3). No entanto, a frequência destas baixas notas foi inferior à frequência das notas altas (6 – gostei ligeiramente a 9 – gostei extremamente).

Com relação à intenção de compra para os vinhos secos, 63,46% dos provadores assinalaram que certamente e ou provavelmente não comprariam a bebida fermentada de amora, enquanto 19,24% dos provadores assinalaram que provavelmente ou certamente comprariam (Figura 4).

Já o vinho tinto obteve 40,00% de provadores que certamente ou provavelmente não comprariam e 46,16% que certamente ou provavelmente comprariam. O vinho rosé obteve as seguintes notas: 57,49% certamente e ou provavelmente não compraria e 21,16% provavelmente ou certamente compraria. Ou seja, o vinho tinto obteve maior intenção de compra que os demais.

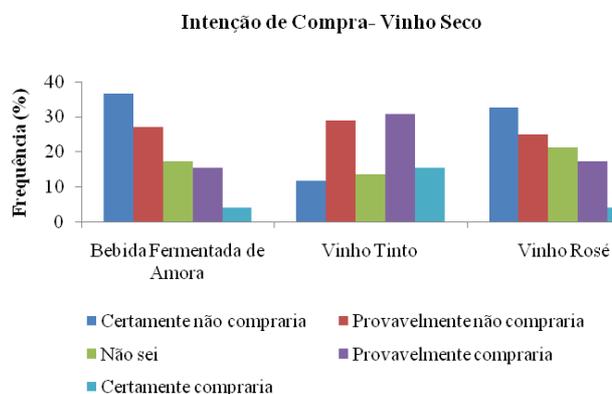


Figura 4 Histogramas de frequência dos valores atribuídos à intenção de compra em vinhos secos

A análise dos histogramas (Figura 5 e 6) das amostras de vinho suave permitiu afirmar que, assim como no vinho seco, o vinho tinto apresentou a maior frequência de notas entre a escala (6- gostei ligeiramente a 9- gostei extremamente) para os atributos aparência, sabor, aroma e impressão global.

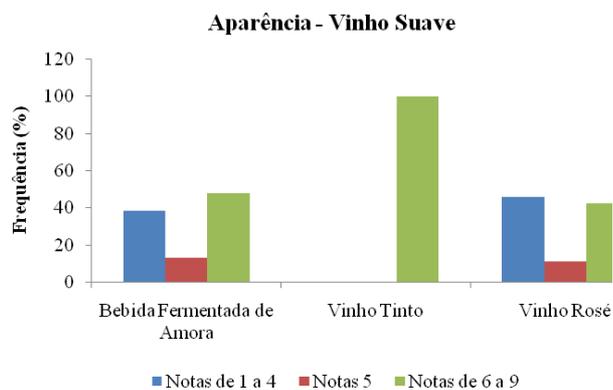


Figura 5 Histogramas de frequência dos valores atribuídos à aparência dos vinhos suaves

Nos atributos sabor, aroma e impressão global, a bebida fermentada de amora obteve as maiores notas entre 1 (desgostei extremamente) a 4 (desgostei ligeiramente).

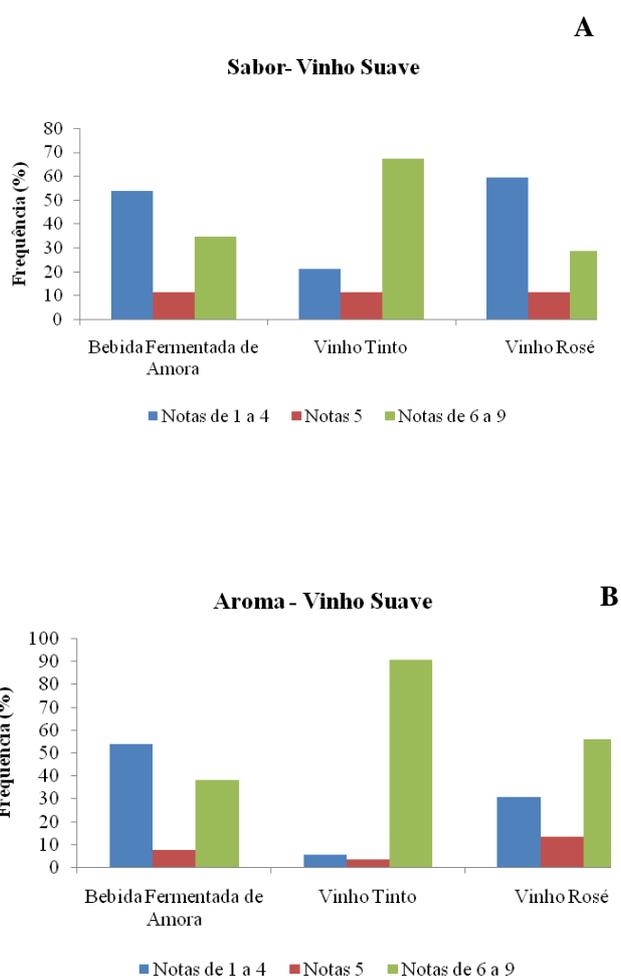


Figura 6 Histogramas de frequência dos valores atribuídos ao sabor (A) e ao aroma (B) em vinhos suaves

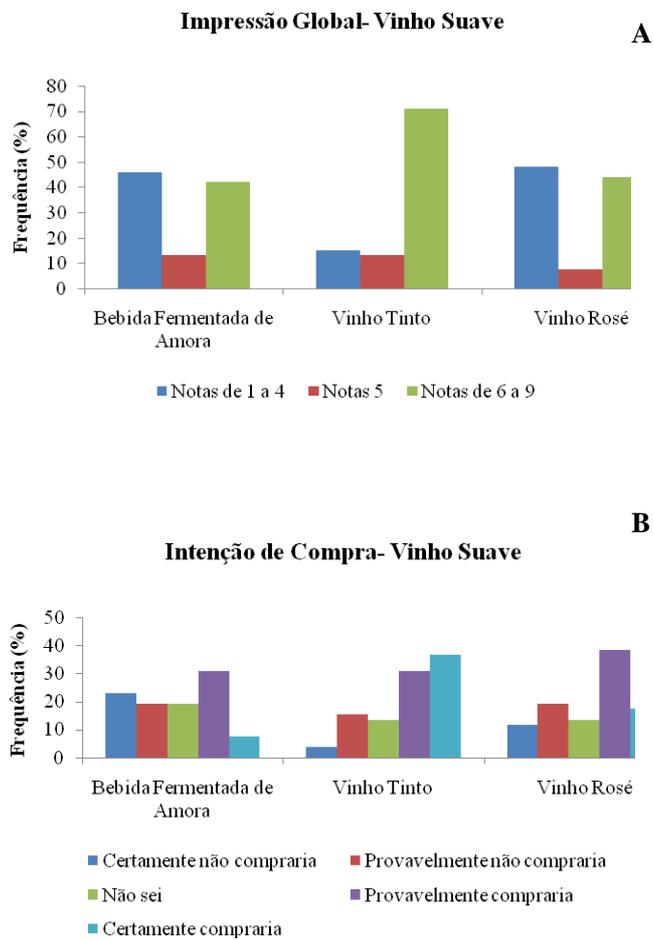


Figura 7 Histogramas de frequência dos valores atribuídos à impressão global (A) e à intenção de compra (B) em vinhos suaves.

Com relação à intenção de compra dos vinhos suave, observa-se que 67,29% dos provadores assinalaram que certamente ou provavelmente comprariam o vinho tinto, enquanto 38,45% assinalaram que provavelmente ou certamente comprariam o vinho de amora. Já o rosé obteve 55,76% de intenção de compra na soma dos quesitos certamente e provavelmente compraria.

A baixa aceitação de vinho obtido de outras frutas possivelmente se deve à pouca inserção deste produto no mercado, o que dificulta o seu conhecimento e o estímulo a seu consumo.

Ao avaliar sensorialmente a bebida fermentada de acerola utilizando de escala hedônica de 9 pontos, Santos et al. (2005) não observaram diferença entre este e o vinho tinto comercializável, quanto aos atributos aparência, aroma e sabor, com médias oscilando entre 6,30 a 6,93 (gostei ligeiramente). A intenção de compra não foi avaliada por estes autores.

Na aceitação da bebida fermentada de banana, Arruda et al. (2007) observaram que o produto apresentou boa aceitabilidade sensorial, não havendo rejeição para a intenção de compra.

4 CONCLUSÕES

A bebida fermentada de amora, vinho tinto e vinho rosé apresentaram características distintas, diferindo nos atributos cromáticos, de compostos bioativos. Nuanças diferentes também foram percebidas entre os atributos seco e suave.

A análise de componentes principais distinguiu as amostras quanto aos teores das aminas biogênicas histamina, tiramina e putrescina.

Os compostos voláteis encontrados foram situados nas três classes, alcoóis, ésteres e terpenos, tendo os compostos 1-pentanol, 3,7,11-trimetildodeca-1,6,10-trien-3-ol, acetato e isopentenil acetato permitido a distinção entre os vinhos.

Embora o vinho de amora tenha apresentado baixo teor de antocianinas, outros constituintes podem estar contribuindo para elevar sua atividade antioxidante, visto que esta foi semelhante à do vinho elaborado com a cv. Bordô.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ADAMS, R. O. S. **Identification of essential oil components by gás chromatography/mass spectroscopy**. Carol Stream: Allured, 1995. 469 p.
- AERNY, J. Définition de la qualité de la vendange: revue suisse de viticulture, arboriculture. **Horticulture**, Alexandria, v. 17, n. 2, p. 219-223, 1985.
- ANDRADE, M. F. et al. Análise multivariada de parâmetros físico-químicos em amostras de vinhos tintos comercializados na região metropolitana do Recife. **Química Nova**, São Paulo, v. 31, n. 2, p. 296-300, mar./abr. 2008.
- ANTUNES, L. E. C. Amora-preta: nova opção de cultivo no Brasil. **Ciência Rural**, Santa Maria, v. 32, n. 1, p. 151-158, jan./fev. 2002.
- ARRUDA, A. R. et al. Caracterização físico-química e avaliação sensorial de bebida fermentada alcoólica de banana. **Revista Ciência Agronômica**, Fortaleza, v. 38, n. 4, p. 377-384, out./dez. 2007.
- ASQUIERI, E. R. et al. Fabricación de vino blanco y tinto de jaboticaba (*Mirciaria jaboticaba Berg*) utilizando la pulpa y la cáscara respectivamente. **Alimentaria**, Madrid, v. 355, n. 1, p. 97-109, 2004.
- ASSOCIATION OF OFFICIAL ANALYTICAL CHEMISTS. **Official methods of analysis of AOAC international**. 17th ed. Raleigh, 2000. v. 2, 1170 p.
- ÁVILA, L. D. **Metodologias analíticas físico-químicas: laboratório de enologia**. Bento Gonçalves: EMBRAPA, 2002. 30 p.
- BAKKER, J.; TIMBERLAKE, C. F. Isolation, identification, and characterization of new color-stable anthocyanins occurring in some red wines. **Journal of Agriculture and Food Chemistry**, Easton, v. 45, n. 1, p. 35-43, Jan. 1997.
- BERSELLI, E. **Caracterização analítica e sensorial do vinho niágara**. Bento Gonçalves: EMBRAPA, 1998. 111 p.
- BLOUIN, J. **Techniques d'analyses des mouts et des vins**. Paris: Dujardin, 1992. 201 p.

BOVER-CID, S. et al. Biogenic mono-, di- and polyamine contents in Spanish wines and influence of a limited irrigation. **Food Chemistry**, London, v. 96, n. 1, p. 43-47, Jan. 2006.

CASTRO, R. et al. Application of solid phase extraction techniques to analyze volatile compounds in wines and other enological products. **European Food Research and Technology**, Berlin, v. 228, n. 1, p. 1-18, Jan. 2008.

CORAZZA, M. L.; RODRIGUES, D. G.; NOZAKI, J. Preparação e caracterização do vinho de laranja. **Química Nova**, São Paulo, v. 24, n. 4, p. 449-452, jul./ago. 2001.

CRUZ, L. et al. Role of vinylcatechin in the formation of pyranomalvidin-3-glucoside-(+)-catechin. **Journal of Agriculture and Food Chemistry**, Easton, v. 56, n. 22, p. 10980-10987, Nov. 2008.

DAL BOSCO, S. M. **A relação existente entre a ingestão de suco de uva e a variação dos níveis de colesterol e pressão arterial sistêmica em idosos**. 2006. 127 p. Dissertação (Mestrado em Gerontologia Biomédica) - Pontifícia Universidade Católica do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, 2006.

DANI, C. et al. Phenolic content and antioxidant activities of white and purple juices manufacture with organically-or conventionally-produced grapes. **Food and Chemistry Toxicology**, London, v. 45, n. 12, p. 2574-2580, Dec. 2007.

DIAS, D. R. et al. Elaboration of a fruit wine cocoa (*Thebroma caçãõ* L.) pulp. **International Journal of Food Science and Technology**, Oxford, v. 42, n. 3, p. 319-329, Mar. 2007.

ÉDER, R.; BRANDES, W.; PAAR, E. Influence of grape rot and fining agents on the contents of biogenic amines in musts and wines. **Mitteilungen Klosterneuburg, Rebe und Wein, Obstbau und Fruchteverwertung**, Cornell, v. 52, n. 5, p. 204-217, Apr. 2002.

FERRER, S.; PARDO, I. **Prevenición de la aparición de aminos biógenas en vinos**. Disponível em: <http://www.acenologia.com/ciencia70_1.htm>. Acesso em: 10 nov. 2011.

FULCRAND, H. et al. A new class of wine pigments generated by reaction between pyruvic acid and grape anthocyanins. **Phytochemistry**, Oxford, v. 47, n. 7, p. 1401-1407, Apr. 1998.

_____. Structure of new anthocyanin-derived wine pigments. **Journal of the Chemical Society, Perkin Transactions**, London, v. 1, n. 7, p. 735-739, July 1996.

GALLICE, W. C. **Caracterização do potencial antioxidante de vinhos e quantificação de fenóis totais e trans-resveratrol utilizando técnicas cromatográficas e espectroscópicas multivariadas**. 2010. 87 p. Dissertação (Mestrado em Química) - Universidade Federal do Paraná, Curitiba, 2010.

GIUSTI, M. M.; WROLSTAD, R. E. Characterization and measurement of anthocyanins by UV-visible spectroscopy. In: WROLSTAD, R. E. (Ed.). **Current protocols in food analytical chemistry**. New York: J. Wiley, 2001. p. 1-13.

GLÓRIA, M. B. A.; VIEIRA, S. M. Technological and toxicological significance of bioactive amines in grapes and wines. **Food Science**, Shannon, v. 1, n. 2, p. 258-270, Aug. 2007.

GRBZ, O.; ROUSEFF, J. M.; ROUSEFF, R. L. Comparison of aroma volatiles in commercial Merlot and Cabernet Sauvignon wines using gas chromatography-olfactometry and gas chromatography-mass spectrometry. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, Easton, v. 54, n. 11, p. 3990-3996, May 2006.

HASSIMOTO, N. M. A.; GENOVESE, M. I.; LAJOLO, F. M. Antioxidant activity of dietary fruits, vegetables, and commercial frozen fruit pulps. **Journal of Agriculture and Food Chemistry**, Easton, v. 53, n. 8, p. 2928-2935, Apr. 2005.

HAYASAKA, Y.; ASENSTORFER, R. E. Screening for potential pigments derived from anthocyanins in red wine using nanoelectrospray tandem mass spectrometry. **Journal of Agriculture and Food Chemistry**, Easton, v. 50, n. 4, p. 756-761, Jan. 2002.

HE, J. et al. A new synthetic route to methyl pyranoanthocyanin pigments occurring in red wines. **Journal of Agriculture and Food Chemistry**, Easton, v. 54, n. 25, p. 9598-9603, Aug. 2006.

HERBERT, P. et al. Relationship between biogenic amines and free amino acid contents of wines and musts from Alentejo, Portugal. **Journal of Environmental Science and Health - Part B Pesticides, Food Contaminants, and Agricultural Wastes**, New York, v. 41, n. 7, p. 1171-1186, July 2006.

KALAC, P.; GLÓRIA, M. B. A. Biogenic amines in cheeses, wines, beers and sauerkraut. In: DANDRIFOSSE, D. (Ed.). **Biological aspects of biogenic amines, polyamines and conjugates**. New Delhi: Transworld Research Network, 2009. p. 267-309.

KALLITHRAKA, S. et al. Determination of major anthocyanin pigments in Hellenic native grape varieties (*Vitis vinifera* sp.): association with antiradical activity. **Journal of Food Composition Analytical**, San Diego, v. 18, n. 5, p. 375-386, Aug. 2005.

KING, A.; DICKINSON, J. R. Biotransformation of monoterpene alcohols by *Saccharomyces cerevisiae*, *Torulaspota delbrueckii* and *Kluyveromyces lactis*. **Yeast**, Davis, v. 16, n. 6, p. 499-506, Apr. 2000.

LEHTONEN, P. Determination of amines and amino acids in wine: a review. **American Journal of Enology and Viticulture**, Davis, v. 47, n. 2, p. 127-133, Apr. 1996.

LI, H. et al. Polyphenolic compounds and antioxidant properties of selected China wines. **Food Chemistry**, London, v. 112, n. 2, p. 454-460, Jan. 2009.

MAATA-RIIHINEN, K. R.; KAMAL-ELDIN, A.; TÖRRÖNEN, A. R. Identification and quantification of phenolic compounds in berries of *Fragaria* and *Rubus* species (family Rosaceae). **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, Easton, v. 52, n. 20, p. 6178-6187, Sept. 2004.

MARQUES, A. P.; LEITAO, M. C.; SAN ROMÃO, M. V. Biogenic amines in wines: influence of oenological factors. **Food Chemistry**, London, v. 107, n. 2, p. 853-860, Feb. 2008.

MARTÍN-ÁLVAREZ, P. J. et al. Influence of technological practices on biogenic amine contents in red wines. **European Food Research and Technology**, Berlin, v. 222, n. 3/4, p. 420-424, Oct. 2006.

MEILGAARD, M.; CIVILLE, G. V.; CARR, B. T. **Sensory evaluation techniques**. 2nd ed. Boca Raton: CRC, 1988. 281 p.

MOTA, R. V. et al. Caracterização físico-química e amins bioativas em vinhos cv. Syrah I: efeito do ciclo de produção. **Ciência e Tecnologia dos Alimentos**, Campinas, v. 29, n. 2, p. 380-385, 2009.

MUNIZ, C. R. et al. Bebidas fermentadas a partir de frutos tropicais. **Boletim do CEPPA**, Curitiba, v. 20, n. 2, p. 309-322, 2002.

MUÑOZ-ESPADA, A. C. et al. Anthocyanin quantification and radical scavenging capacity of Concord, Norton, and Marechal Foch Grapes and wines. **Journal of Agriculture and Food Chemistry**, Easton, v. 52, n. 22, p. 6779-6786, Oct. 2004.

PANG, X. M. et al. Polyamines, all-purpose players in response to environment stresses in plants. **Plant Stress**, Melbourne, v. 1, n. 2, p. 173-188, 2007.

PERESTRELO, R. et al. Analytical characterization of the aroma of Tinta Negra Mole red wine: identification of the main odourants compounds. **Analytica Chimica Acta**, Amsterdam, v. 563, n. 1 p. 154-164, Jan. 2006.

PIZZATO, I. **Caracterização analítica e sensorial de vinhos elaborados no Vale do São Francisco**. Bento Gonçalves: EMBRAPA, 2000. 98 p.

PLATA, C. et al. Formation of ethyl acetate and isoamyl acetate by various species of wine yeasts. **Food Microbiology**, London, v. 20, n. 1, p. 217-224, Jan. 2003.

REDDY, L. V. A.; REDDY, O. V. S. Production and characterization of wine from mango fruit (*Mangifera indica* L.). **World Journal of Microbiology & Biotechnology**, Netherlands, v. 21, n. 8/9, p. 1345-1350, Dec. 2005.

RIBÉREAU-GAYON, P.; STONESTREET, E. Dosage des tannins du vin rouge et détermination de leur structure. **Analytical Chemistry**, New York, v. 2, p. 627-631, 1966.

RIZZON, L. A.; MIELE, A.; MENEGUZZO, J. Avaliação da uva cv. Isabel para a elaboração de vinho tinto. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, Campinas, v. 20, n. 1, p. 115-121, abr. 2000.

RIZZON, L. A.; SALVADOR, M. B. G. **Composição química dos vinhos da microregião homogênea vinicultora de Caxias do Sul (MRH 311) compostos voláteis**. Bento Gonçalves: EMBRAPA Uva e Vinho, 1987. 4 p.

ROSIER, J. P. **Manual de elaboração de vinho para pequenas cantinas**. 2. ed. Florianópolis: EPAGRI, 1995. 72 p.

RUFINO, M. S. M. et al. Free radical-scavenging behaviour of some north-east Brazilian fruits in a DPPH system. **Food Chemistry**, London, v. 114, n. 2, p. 693-695, Feb. 2009.

SABAINI, P. S. **Métodos de análise e determinação de aminas livres e conjugadas em uvas e vinhos**. 2009. 103 p. Dissertação (Mestrado em Ciência e Tecnologia de Alimentos) - Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte, 2009.

SANCHES-MORENO, C. et al. Anthocyanin and proanthocyanidin content in selected white and red wines: oxygen radical absorbance capacity comparison with nontraditional wines obtained from highbush blueberry. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, Easton, v. 51, n. 17, p. 4889-4896, Nov. 2003.

SANTOS, S. C. et al. Elaboração e análise sensorial do fermentado de acerola (*Malpighia Punicifolia* L.). **Brazilian Journal of Food Technology**, Campinas, n. 10, p. 47-50, mar. 2005.

SANZ, C.; OLIAS, J. M.; PEREZ, A. G. Aroma biochemistry of fruit and vegetables. In: TOMÁS-BARBÉRAN, F. A.; ROBINS, R. J. (Ed.). **Phytochemistry of fruit and vegetables**. Oxford: Clarendon, 2007. p. 125-155.

SCHMIDT, P.; IMPARATO, S.; SILVA, O. M. C. Avaliação físico-química de fermentado de amora cv. Tupy. In: CONGRESSO DE INICIAÇÃO CIENTÍFICA, 19.; ENCONTRO DE PÓS-GRADUAÇÃO, 12.; MOSTRA CIENTÍFICA, 2., 2010, Pelotas. **Anais...** Pelotas: UFPEL, 2010. 1 CD-ROM.

SCHWARZ, M.; JERZ, G.; WINTERHALTER, P. Isolation and structure of Pinotin A, a new anthocyanin derivative from Pinotage wine. **Vitis**, Siebeldingen, v. 42, n. 1, p. 105-106, 2003.

SILVA, T. G. et al. Diagnóstico vinícola do Sul de Minas Gerais II: teores de minerais dos vinhos. **Ciência Agrotecnologia**, Lavras, v. 23, n. 3, p. 638-642, maio/jun. 1999.

SOUZA, S. C. et al. Bioactive amines in Brazilian wines: types, levels and correlation with physico-chemical parameters. **Brazilian Archives of Biology and Technology**, Curitiba, v. 48, n. 1, p. 53-62, 2005.

TECCHIO, F. M. **Características físico-químicas e sensoriais do vinho bordô de flores da cunha**. Bento Gonçalves: Centro Federal de Educação Tecnológica, 2007. 97 p.

WARD, O. **Biología de la fermentación**: principios, procesos y productos. Zaragoza: Acribia, 1991. 155 p.

WATERHOUSE, A. L. Determination of total phenolics. In: _____. **Handbook of food analytical chemistry**: polyphenolics. New York: Wiley, 2001. p. 464-465.

ANEXO

FICHA DE AVALIAÇÃO SENSORIAL

Avalie as amostras da esquerda para a direita e indique, utilizando a escala abaixo, o quanto você gostou ou desgostou, na seguinte ordem, sabor, aroma e aspecto global das amostras de vinho.

	N ^o amostra	Nota cor	Nota aroma	Nota sabor	Impressão global
9 – gostei extremamente					
8 – gostei muito					
7 – gostei moderadamente					
6 – gostei ligeiramente					
5 – nem gostei/nem desgostei	_____	_____	_____	_____	_____
4 – desgostei ligeiramente	_____	_____	_____	_____	_____
3 – desgostei moderadamente	_____	_____	_____	_____	_____
2 – desgostei muito					
1 – desgostei extremamente					

Comentários: _____

Agora, utilizando a escala abaixo, indique a sua intenção de compra com relação ao produto.

	N ^o amostra	Intenção de compra
5 – certamente compraria		
4 – provavelmente compraria		
3 – não sei		
2 – provavelmente não compraria	_____	_____
1 – certamente não compraria	_____	_____