

**Composição química e atividade antioxidante de
maracujá-roxo (*Passiflora edulis Sims edulis*) em
diferentes graus de maturação**

Nathália Bertoto Mercante de Souza

*Dissertação apresentada à Escola Superior Agrária de Bragança para obtenção do
Grau de Mestre em Qualidade e Segurança Alimentar*

Orientado por

Professora Doutora Maria de Fátima Lopes da Silva

Doutor Ricardo Manuel da Silva Malheiro

Co-orientado por

Professora Doutora Roberta Leone

**Bragança
2016**

Aos meus pais
Aos meus irmãos

Agradecimentos

A realização desta dissertação foi possível graças a colaboração direta e indireta de pessoas que são indispensáveis na minha vida, e outras que acabaram se tornando durante este período de investigação e trabalho.

As minhas orientadoras Professora Doutora Mária de Fátima Lopes da Silva, da Escola Superior Agrária, do Instituto Politécnico de Bragança, e Professora Doutora Roberta Leone da Universidade Tecnológica Federal do Paraná (UTFPR) – Brasil, pela orientação deste trabalho, por toda ajuda e disposição que sempre me prestaram, pela capacidade científica, bem como por toda a força e incentivo ao longo da realização deste.

Ao meu co-orientador Doutor Ricardo Manuel da Silva Malheiro, pois sua colaboração, amizade e humildade na forma de ensinar me trouxeram até o fim deste trabalho. Serei eternamente grata pela sua disposição, profissionalismo, pelo respeito, pelos ensinamentos transmitidos e pela ajuda prestada em todos os momentos.

Aos meus colegas de laboratório, em especial Luana Fernandes e Agostinho Magalhães, pois a ajuda e presença de vocês foi de grande importância. Só tenho a agradecer pela amizade que compartilhamos, pela paciência, carinho e respeito que sempre tiveram comigo e por toda a ajuda sempre prestada. Terei sempre vocês em meu coração.

Manifesto minha gratidão também a assistente técnica do Laboratório de Agro-Indústria Céu Fidalgo, toda a sua disposição e ajuda durante minha investigação foram importantíssimas para mim e todo o carinho que sempre teve comigo eu jamais me esquecerei.

Aos meus professores do IPB e da UTFPR, que foram essenciais para minha formação. Em especial às professoras Karla Silva e Angela Maria Gozzo que acreditaram em minha capacidade e deram todo seu apoio e mesmo à distância sempre estiveram dispostas a ajudar e resolver situações adversas.

Aos meus pais Joice e Marcos, irmãos Otávio, Graziela e Vinicius, minha avó Jandira e meus tios Jussara e Rodrigo por todo amor, carinho e preocupação mesmo a distância. O meu eterno agradecimento a todos vocês pelo apoio e pela confiança, por sempre acreditarem em mim e nunca me deixarem desanimar. Meu amor é incondicional.

Aos meus amigos que fizeram parte da minha vida acadêmica, durante esses anos foram fundamentais para a minha caminhada e estiveram presentes nos momentos mais difíceis e nos mais felizes.

Aos amigos que fiz aqui em Portugal que tive o prazer de conviver durante todos os meus dias, vocês foram essenciais para que esta experiência tenha sido única e inesquecível bem como para superar a saudade e dias de desânimo, levarei para sempre em minha vida.

À Deus.

“O que quer que você possa fazer, ou sonha que possa fazer, faça. Coragem contém genialidade, poder e magia.”

(Goethe)

Índice Geral

Índice de Tabelas	XI
Índice de Figuras	XIII
Resumo	XV
Abstract.....	XVI
1.Introdução e Objetivos.....	3
1.1.Introdução.....	3
1.2.Objetivos.....	4
2.Fundamentação Teórica.....	7
2.1.Classificação e botânica do maracujá.....	7
2.2.Produção.....	7
2.3.Utilização do fruto	8
2.4.Caracterização físico-química das diferentes partes do fruto	10
2.5.Formação e evolução do fruto	16
3.Materiais e Métodos	21
3.1.Obtenção e preparação das amostras	21
3.2.Caracterização do fruto inteiro	22
3.2.1.Massa e dimensões	22
3.2.2.Cor.....	22
3.3.Caracterização da casca	23
3.3.1.Teor de umidade	23
3.3.2.Teor de cinza bruta	23
3.3.3.Teor de proteína bruta.....	23
3.4.Caracterização das sementes	24
3.4.1.Teor de umidade	24
3.4.2.Teor de cinza bruta	24
3.4.3.Teor de proteína bruta.....	24
3.4.4.Teor de gordura bruta	24

3.5.Caracterização da polpa.....	25
3.5.1.Teor de umidade	25
3.5.2.Determinação da cor	25
3.5.3.Teor de cinza bruta	26
3.5.4.Teor de proteína bruta.....	26
3.5.5. pH.....	26
3.5.6.Acidez titulável.....	26
3.5.7.Teor de potássio e teor de magnésio.....	26
3.5.8.Teor de sólidos solúveis	27
3.5.9.Identificação e quantificação de açúcares e ácidos orgânicos	27
3.6.Atividade antioxidante.....	28
3.6.1.Preparação dos extratos	28
3.6.2.Rendimento de extração	29
3.6.3.Atividade Sequestradora do radical DPPH.....	29
3.6.4.Atividade sequestradora do radical ABTS (ABTS ^{•+})	30
3.6.5.Determinação do poder redutor	31
3.6.6.Avaliação dos diferentes grupos fenólicos	32
3.7.Análise estatística	32
4. Resultados e Discussão.....	37
4.1.Caracterização física do fruto	37
4.1.1.Cor das cascas.....	38
4.2.Composição centesimal da casca.....	39
4.3.Composição centesimal das sementes	41
4.4.Caracterização da polpa.....	43
4.4.1.Cor	43
4.4.2.Composição química	43
4.5. Atividade antioxidante.....	49

4.5.1.Rendimento de extração	50
4.5.2.Atividade Antiradicalar	51
4.5.3.Poder redutor	54
4.5.4.Diferentes grupos fenólicos	56
5. Conclusões.....	65
6. Referências.	69

Índice de Tabelas

Tabela 1. Composição básica do fruto de maracujá-roxo (<i>Passiflora edulis Sims edulis</i>).	11
Tabela 2. Médias dos diâmetros longitudinal e equatorial, peso fresco e rendimento em polpa com sementes do maracujá-roxo em diferentes graus de maturação.....	37
Tabela 3. Colorimetria das faces do maracujá-roxo nos diferentes graus de maturação.	38
Tabela 4. Valores percentuais em base seca de cinzas e proteína da casca de maracujá-roxo nos diferentes graus de maturação.	40
Tabela 5. Valores percentuais em base seca de cinzas, proteína e gordura da semente de maracujá-roxo nos diferentes graus de maturação.....	41
Tabela 6. Colorimetria da polpa nos diferentes graus de maturação.....	43
Tabela 7. Teor de cinzas e proteína (% em base seca), pH, teor de sólidos solúveis totais (°Brix) e magnésio e potássio (ppm) da polpa nos diferentes graus de maturação.	44
Tabela 8. Correlações estabelecidas entre o teor em compostos fenólicos totais e os valores de CE ₅₀ dos métodos antioxidantes testados na polpa, casca e semente de maracujá-roxo ao longo da maturação.....	61

Índice de Figuras

Figura 1. Exemplo da estrutura de alguns flavonóides (catequina (A) e antocianinas (B), e não-flavonóides (ácido hidrocínâmico (C) e ácido hidroxibenzóico (D))).	15
Figura 2. Frutos de maracujá-roxo em distintos graus de maturação, apresentados em corte longitudinal (I), equatorial (II) e como fruto inteiro (III).	21
Figura 3. Execução da medição do comprimento e da largura dos frutos.	22
Figura 4. Fotografia no momento da leitura, que evidencia a cor das polpas de maracujás dos diferentes graus de maturação.	25
Figura 5. Fotografia exemplificativa do aspeto dos extratos metanólicos das polpas nos diferentes graus de maturação	29
Figura 6. Visualização da solução de DPPH com concentrações crescentes de extrato.	30
Figura 7. Visualização da solução de ABTS com concentrações crescentes de extrato.	31
Figura 8. Poder redutor com concentrações crescentes de extrato.	32
Figura 9. Valores obtidos de acidez titulável expressa em ácido cítrico para os diferentes graus de maturação.	46
Figura 10. Exemplo de cromatogramas obtidos para a polpa dos grupos G1 e G5 da esquerda para a direita, com os referidos picos de ácido cítrico (A), ácido málico (B) e ácido ascórbico (C).	47
Figura 11. Exemplos dos cromatogramas obtidos para a polpa referente aos açúcares, do grupos G1 e G5 da esquerda para a direita, com os referidos picos de sacarose (A), glucose (B) e frutose (C).	47
Figura 12. Valores determinados para sacarose, frutose e glucose na polpa nos diferentes graus de maturação	48
Figura 13. Valores determinados para ácidos orgânicos na polpa nos diferentes grupos de maturação	49
Figura 14. Rendimentos de extração obtidos a partir de extrações metanólicas aplicadas às diferentes partes do fruto estudadas).	50
Figura 15. Valores obtidos das análises da atividade antiradicalar DPPH e ABTS•+ (15A e 15 B respetivamente) dos extratos de polpa, casca, e semente.	52
Figura 16. Valores obtidos das análises da capacidade redutora pelo método poder redutor dos extratos de polpa, casca, e semente.	55

Figura 17. Valores obtidos das análises dos diferentes grupos fenólicos, fenóis totais (17A), derivados do ácido hidroxicinâmico (DAH) (17B), e flavonóis (17C)..... 58

Resumo

O maracujá-roxo é um fruto tropical que tem ganho destaque devido ao seu valor nutricional, organolético e às emergentes descobertas acerca das suas propriedades farmacêuticas e antioxidantes.

Durante o processo de maturação decorrem várias reações de ordem física e química, e no intuito de enriquecer o conhecimento acerca de como a composição química e as propriedades do maracujá-roxo evoluem ao longo da maturação, este trabalho consistiu na caracterização física do fruto inteiro e na caracterização química geral das sementes, casca e polpa em frutos separados em cinco graus de maturação diferentes (G1 a G5). Foi também avaliada a atividade antioxidante (atividade antiradicalar e poder redutor), e o teor em compostos fenólicos (fenóis totais, derivados do ácido hidroxicinâmico e flavonóis) das diferentes matrizes que compõem o fruto ao longo da maturação.

A partir dos resultados obtidos verificou-se na casca que o teor em cinza bruta aumenta essencialmente entre G1 e G2 enquanto se verificou uma diminuição da proteína. Em relação à semente, o teor em cinza bruta aumenta gradualmente, e o teor em proteína aumenta de G1 para G2, estabilizando posteriormente nos 8% (base seca). O teor em gordura aumenta gradualmente ao longo da maturação, verificando-se um maior acúmulo entre G1 e G2 (9,9 e 19,1% respetivamente). No que respeita à polpa, há uma diminuição nos teores de cinza e proteína e aumento dos sólidos solúveis totais. Verificou-se um aumento ligeiro do pH ao longo da maturação (entre 2,8 a 3,1) e uma diminuição da acidez (entre 12,1 e 6,7 g de ácido cítrico 100 mL⁻¹). Constatou-se que os açúcares predominantes na polpa foram a sacarose, frutose e glucose. Quanto aos ácidos orgânicos, o ácido cítrico foi o maioritário em todos os graus de maturação e teores mais baixos foram quantificados para os ácidos málico e ascórbico.

Entre as diferentes partes do fruto estudadas, as cascas foram a matriz mais antioxidante, aumentando o seu potencial bioativo durante a maturação. As sementes apresentaram valores mais elevados de fenóis totais, derivados do ácido hidroxicinâmico e flavonóis. Foi verificado que a atividade antioxidante esteve correlacionada com os valores de fenóis totais presentes nas diferentes partes do fruto ao longo da maturação. De acordo com o conhecimento dos autores, este é o primeiro estudo que toma em consideração as alterações sofridas pelas diferentes partes do maracujá-roxo produzido em Portugal, ao longo da maturação.

Palavras-chave: sementes; cascas; polpas; evolução; composição química, bioatividade.

Abstract

The purple passion fruit is a tropical fruit that has gained visibility due to its nutritional value, organoleptic and emerging discoveries about their pharmaceutical and antioxidant properties.

During the maturation process happen many reactions of physical and chemical order, and in order to develop the knowledge of how the chemical composition and passion fruit purple properties evolve over maturation, this work is about the physical characterization of the whole fruit and in the general chemical characteristics of seeds, peel and pulp in fruits separated into five different states of maturation (G1 to G5). We also evaluated the flesh color, the antioxidant activity (antiradical activity and reducing power), and the content of phenolic compounds (total phenols, derivatives of hydroxycinnamic acid and flavonoids) of different matrices that compose the fruit during the maturation.

From the results obtained it was found in the peel the content of crude ash increases essentially between G1 and G2 while there was a decrease in protein. In relation to the seed, the crude ash content gradually increases, and the protein content increases from G1 to G2, then stabilized at 8% (dry matter). The fat content increases gradually along the ripening, verifying greater accumulation between G1 and G2 (9.9 and 19.1% respectively). About the pulp, there is a decrease in ash content and protein and the total soluble solids content increased. There was a slight increase in pH during maturation (between 2.8 to 3.1) and a decrease in acidity (between 6.7 and 12.1 g citric acid 100 ml⁻¹). It was found that in all states of maturation, the predominant sugars in the pulp are sucrose, fructose and glucose. As the organic acids, citric acid was the majority in all states of maturity and lower levels were quantified for the malic and ascorbic acids.

Among the different parts of the fruit studied, peels were more antioxidant matrix, increasing their potential bioactive during maturation. The seeds showed higher values of total phenols, derivatives of hydroxycinnamic acid and flavonoids. It was found that the antioxidant activity was correlated with the values of total phenols present in different parts of the fruit during the maturation. According to the authors knowledge, this is the first study that takes into account the changes suffered by the different parts of the purple passion fruit produced in Portugal, along the maturation.

Keywords: seeds; peels; pulps; evolution; chemical composition, bioactivity.

CAPÍTULO 1

Introdução e Objetivos

1. Introdução e Objetivos

1.1. Introdução

A alimentação desempenha um papel fundamental na promoção e manutenção da saúde e por esta razão, os consumidores procuram alimentos que possuam uma alta qualidade nutricional e que proporcionem benefícios diretos à saúde. As frutas são um componente integral de uma dieta equilibrada e o aumento do conhecimento das suas propriedades funcionais, ligadas à presença de compostos antioxidantes, reforçam a ideia da importância do seu consumo regular (Baht e Paliyath, 2016).

O maracujá é um fruto tropical que vem ganhando grande destaque na indústria e setor farmacêutico devido às suas já comprovadas propriedades medicinais, presentes em extratos de flores e folhas, bem como ao seu potencial antioxidante, observado em extratos de óleo da semente, casca e polpa (Alves, 2013; Dhawan, 2004; Schotsmans e Fischer, 2011; Zeraik *et al.*, 2010).

As espécies mais conhecidas e de maior aplicação comercial são o maracujá-amarelo (*Passiflora edulis* Sims *flavicarpa*), o maracujá-doce (*Passiflora alata* Cutis) e o maracujá-roxo (*Passiflora edulis* Sims *edulis*). Estas espécies são as mais cultivadas no mundo e dão origem à maioria dos produtos do maracujá, como sumos, polpas congeladas e néctares, além do uso como aromatizante e das aplicações farmacêuticas que crescem no mercado (Embrapa, 2006; Meletti, 2011; Zeraik *et al.*, 2010).

O amadurecimento é um fenómeno geneticamente programado e irreversível, que envolve uma série de alterações fisiológicas, bioquímicas e organoléticas, provendo o desenvolvimento de uma fruta macia e comestível, com desejáveis atributos de qualidade. Uma ampla gama de alterações bioquímicas, tais como, aumento da taxa respiratória, degradação de clorofila, biossíntese de carotenóides, de antocianinas e de óleos essenciais, e desenvolvimento do sabor e aroma são algumas das mudanças importantes envolvidas durante a maturação (Prassana *et al.*, 2007).

Mesmo com o crescente interesse nas propriedades e composição das diferentes espécies de maracujá, essas informações são ainda escassas relativamente ao maracujá-roxo. Neste contexto, é importante o conhecimento da composição química do fruto no momento da sua colheita e/ou utilização, os principais componentes responsáveis pela ação antioxidante e como se formam, comportam e degradam de acordo com o estado de maturação do fruto. Só com este conhecimento será possível alcançar o melhor

aproveitamento dos componentes benéficos para a saúde, além da possibilidade de reutilizar os subprodutos resultantes, até há pouco vistos apenas como resíduos.

1.2. Objetivos

O presente estudo teve como objetivos específicos:

- Avaliar a composição química e a atividade antioxidante das cascas, sementes e polpa do fruto de maracujá-roxo em distintos graus de maturação;
- Identificar os parâmetros físicos e químicos que poderão evidenciar-se como indicadores da composição dos frutos num determinado grau de evolução fisiológica;
- Caracterizar as partes dos frutos com maior potencial antioxidante e a fase da maturação do fruto em que essa atividade é mais expressiva.
- Relacionar os diversos indicadores de qualidade química e física dos frutos e das suas partes entre si e com o grau de maturação

CAPÍTULO 2

Fundamentação Teórica

2. Fundamentação Teórica

2.1. Classificação e botânica do maracujá

Maracujá é o nome dado a várias espécies do gênero *Passiflora*. Seu nome é derivado do vocábulo tupi *marau-ya*, que para os indígenas (no Brasil) significa “fruto de sorver” ou “polpa que se toma de sorvo” (Zeraik *et al.*, 2010).

O maracujazeiro pertence à classe Magnoliopsida, à ordem Malpighiales, à família Passifloraceae e ao gênero *Passiflora*. Este gênero é o maior desta família botânica, que compreende aproximadamente 530 espécies, estando estas distribuídas em regiões temperadas e tropicais, principalmente na América do Sul (Schotsmans e Fischer, 2011; Dhawan, 2004).

O gênero *Passiflora* é caracterizado por trepadeiras herbáceas, sublenhosas, com crescimento vigoroso, podendo atingir entre cinco a dez metros de comprimento, possui sistema radicular pouco profundo, caule trepador, folhas lobadas e verdes com gavinhas (órgão de sustentação) gema florífera e gema vegetativa na axila da folha. As flores são bissexuais ou unissexuais e começam sua floração aos quatro - cinco meses de vida. (Dhawan, 2004; Schotsmans e Fischer, 2011).

O maracujá é um fruto carnoso do tipo baga, com epicarpo (casca) às vezes lignificado, mesocarpo com espessura que varia de 0,5 a 4,0 cm, endocarpo (polpa) e sementes com arilo carnoso. O fruto apresenta tamanho, forma, peso, coloração e sabor variados, diferenciados conforme cada espécie. Os frutos do maracujá-roxo são globosos, com 4 a 5 cm de diâmetro. As sementes geralmente são ovais e achatadas com coloração preta ou castanho-escura recobertas por pontuações mais claras quando secas, envolvidas por uma polpa sumosa, amarela e aromática (Embrapa, 2006; Schotsmans e Fischer, 2011).

2.2. Produção

O maracujá está incluído na categoria comercial de frutos tropicais secundários, cujo mercado cresceu rapidamente nos últimos anos. Apesar do gênero *Passiflora* ter um grande número de espécies, apenas os frutos de cerca de 20 variedades são comestíveis e destinadas ao cultivo. Na cultura do maracujá a nível mundial, a espécie mais cultivada é a do maracujá-amarelo devido ao seu maior rendimento em sumo, à maior produtividade e à maior resistência a pragas e doenças, seguida pelo maracujá doce e maracujá-roxo. A

espécie *Passiflora edulis* Sims, tem sua produção concentrada no Equador, Peru, Austrália, África e sudeste asiático e vem ganhando grande espaço no Brasil, sendo o seu cultivo mais indicado para produção no centro-sul do país, pelo fruto preferir clima ameno e pela região produzir frutos adequados a um segmento diferenciado de mercado, que comercializa frutas por unidade e privilegia a qualidade para consumo *in natura* (Embrapa, 2006; Malacrida & Jorge, 2012; Meletti *et al.*, 2005).

O Brasil destaca-se como o principal produtor de maracujá no mundo, seguido do Perú, Venezuela, África do Sul, Sri Lanka e Austrália (Schotsmans e Fischer, 2011). A produção de maracujá no Brasil foi de 838.244 toneladas no ano de 2013, e os cultivos comerciais do país baseiam-se numa única espécie, o maracujá-amarelo ou azedo, que representa 95% da área cultivada neste país, devido à qualidade dos seus frutos, vigor, produtividade e rendimento em sumo (Embrapa, 2013). Os outros cinco por cento são representados pelo maracujá-doce, maracujá-roxo e outras espécies (Embrapa, 2006; Meletti, 2011; Zeraik *et al.*, 2010).

Em Portugal, por muitos anos, a produção de maracujá teve apenas um caráter familiar, e a espécie mais cultivada é a de maracujá-roxo. Hoje, mesmo ainda com muitos pomares familiares, encontra-se uma produção mais estável, centralizada nas regiões insulares da Madeira e dos Açores. De acordo com o Instituto Nacional de Estatística (INE, 2013), a produção de maracujá no arquipélago da Madeira em 2012 foi de 208 toneladas, e no arquipélago dos Açores, de 27 toneladas. O maracujá tem, quer no mercado nacional português, quer no internacional, um escoamento regular, que não é mais fluido em Portugal devido às elevadas cotações que o fruto atinge, pela falta de produção e pelo fato do abastecimento estar quase que totalmente baseado na importação de fruta de outros países (Madeira, 2013).

2.3. Utilização do fruto

O maracujá apresenta, em geral, três grandes vertentes de utilização: o consumo *in natura*, o processamento industrial e aplicações farmacêuticas (Bhat e Palyath, 2015).

A aparência de um fruto é o principal fator de qualidade do ponto de vista da comercialização em fresco. Dessa forma, relativamente ao consumo *in natura*, os consumidores, em geral, procuram consumir frutos com melhor aspeto, avaliando atributos como tamanho, forma, cor, textura (percepcionada) e defeitos aparentes (Sato *et al.*, 2007).

Na indústria, a polpa é a principal matriz utilizada nos processos de transformação, produzindo-se, de entre os principais produtos do maracujá, sumo a 14° Brix e concentrados a 50° Brix (Coelho *et al.*, 2010). Para tal, as indústrias utilizam normalmente frutos em diferentes graus de maturação, e isto pode influenciar diretamente a designação correta do fruto nos processos industriais, além de se deixar de aproveitar o potencial máximo de comercialização deste fruto. Há preferência por frutos de alto rendimento em sumo e com maior teor de sólidos solúveis totais, além de altos teores de ácidos no sumo para diminuir a adição de acidificantes. Outra utilização industrial é o uso como agente aromatizante em preparações de bolos, sorvetes e geleias (Baht e Paliyath, 2016; Schotsmans e Fischer, 2011).

Os subprodutos (cascas e sementes) que se originam no processamento do sumo de maracujá correspondem a cerca de 65 a 70% do peso do fruto, constituindo um resíduo agroindustrial. Neste contexto, muitas pesquisas emergiram na última década com interesse económico, científico e tecnológico, a fim de determinar a composição e as propriedades destas matrizes, tentando promover o seu reaproveitamento industrial, por incorporação noutros produtos alimentícios, bem como no desenvolvimento de novos produtos com propriedades benéficas a saúde (Embrapa, 2006; Jorge *et al.*, 2009; Oliveira *et al.*, 2009).

A terceira vertente de utilização do maracujá são as aplicações farmacêuticas. Várias partes desta planta apresentam propriedades bioativas e têm sido usados extratos para tratar a ansiedade, insónia, asma, broquite, infeções do trato urinário (Zibadi e Watson, 2004), como sedativo suave, no tratamento de asma brônquica, distúrbios gastrointestinais nervosos e problemas na menopausa (Schotsmans e Fischer, 2011).

Assim, diversas espécies do género *Passiflora* estão a ser utilizadas em sistemas terapêuticos de diversos países. No Brasil, o maracujá é utilizado em medicina popular como ansiolítico, sedativo, diurético e analgésico e essas propriedades são aproveitadas também em medicamentos em países europeus, no Uruguai e no México (Dhawan *et al.*, 2004).

Zibadi *et al.* (2007) investigaram o efeito anti-hipertensivo do extrato da casca de maracujá-roxo em ratos e em seres humanos do sexo feminino espontaneamente hipertensos e concluíram que o extrato pode ser oferecido como um tratamento alternativo seguro para pacientes hipertensos. Num outro estudo, Watson *et al.* (2008) investigaram a eficácia do extrato da casca de maracujá-roxo em sintomas de asma por administração oral num estudo de quatro semanas em pacientes asmáticos e, através do mesmo, foi

observada uma melhoria em um segundo no volume expiratório forçado dos pacientes suplementados com extrato. Nenhum efeito adverso foi relatado por qualquer dos participantes do estudo, concluindo que o extrato pode ser oferecido de forma segura aos indivíduos asmáticos, como uma alternativa de tratamento para reduzir os sintomas clínicos.

Já em folhas do maracujazeiro, Li *et al.* (2010) compararam as atividades ansiolíticas de extratos de folhas de maracujá amarelo e roxo, oriundos de diferentes províncias da China, utilizando ratos albinos como animais de experimentação, reportando que o maracujá roxo exibiu efeito sedativo a 400 mg kg⁻¹ e o maracujá amarelo exibiu efeito ansiolítico nessa mesma concentração, concluindo que há diferenças nas substâncias neurofarmacológicas ativas nos extratos, mas que ambos podem ser usados para aplicações farmacêuticas.

2.4. Caracterização físico-química das diferentes partes do fruto

O conhecimento das características físicas e químicas dos frutos de maracujá é importante por permitir avaliar o seu valor nutricional e, ao conhecer a sua composição, e tentar conjugar todos os factores que influenciam a sua qualidade no sentido de obter maracujás ou produtos derivados de maracujá que correspondam aos requisitos do mercado *in natura* ou industrial.

O desenvolvimento e amadurecimento dos frutos são acompanhados por um grupo de alterações fisiológicas e químicas, que traduzem as características organolépticas de cada variedade (Schotsmans e Fischer, 2011; Pruthi, 1963). Na Tabela 1 encontram-se valores mínimos e máximos para alguns parâmetros físico-químicos de maracujá-roxo fresco.

A casca representa aproximadamente 53% da composição física do maracujá e é considerada um subproduto de grande relevância na indústria de sumo e polpas. É constituída basicamente por água, hidratos de carbono e proteína e é considerada um boa fonte de pectina e fibras solúveis, sendo estas importantes agentes na prevenção de doenças cardiovasculares, gastrointestinais diabetes e obesidade (Liew *et al.*, 2014; Macagnan *et al.*, 2015).

Muito se tem estudado sobre o emprego de cascas em produtos alimentícios (Cazarin *et al.*, 2014; Zeraik *et al.*, 2010). Por exemplo, a casca de maracujá amarelo é considerada uma matéria prima de baixo custo e viável para o enriquecimento de produtos alimentícios e produção de doce em calda, geleias, barras de cereais, cereais matinais e biscoitos (Janebro *et al.*, 2008).

Tabela 1. Composição básica do fruto de maracujá-roxo (*Passiflora edulis Sims edulis*).

Parâmetro	Valor mínimo	Valor máximo
Peso (g)	34,49	55,86
Diâmetro (cm)	4,35	5,57
Comprimento(cm)	4,68	5,37
pH	2,97	4,64
*SST (%brix)	11,9	17
Humidade (%)	71,83	72,57
Proteína (%)	2,2	3,1
Gordura (%)	0,07	0,7
Fibra (%)	11,84	13,76
Glucose (%)	1,93	2,25
Frutose (%)	1,95	3,13
Sacarose (%)	2,67	3,13
Ácido cítrico(%)	2,58	3,42
Ácido málico(%)	0,22	0,38

*SST= Sólidos solúveis totais

Fonte: Schotsmans e Fischer, 2011.

Souza *et al.*, (2008) verificaram que a farinha da casca do maracujá possui alto teor de fibra alimentar ($66,37 \pm 0,71$ g/100g), e as propriedades funcionais e tecnológicas que apontaram para uma alta capacidade de retenção, absorção e adsorção de água. Cazarin *et al.*,(2014) demonstraram que a casca do maracujá poderia ser utilizada como fonte de fibras e antioxidantes, mas atentaram que a sua incorporação em formulações alimentares deve ter em consideração as suas características físicas, químicas e sensoriais, para garantir o seu melhor aproveitamento e aceitação entre os consumidores.

Para o maracujá – roxo as cascas são ainda um importante indicador do seu grau de maturação. Em geral, a fruta é colhida ainda com coloração verde com manchas roxas espalhadas, e após a colheita, a cor continua a desenvolver-se até cobrir toda a casca (Jiménez *et al.*, 2011). Dessa forma, as antocianinas são o principais compostos que contribuem para os padrões de cores das flores e da cor púrpura dos frutos, que varia entre tons compreendidos desde a coloração vermelha até a coloração azul e têm sido sugeridas como um corante natural, como forma de substituir os corantes sintéticos nos alimentos,

porém uma grande demanda de estudos ainda vem sendo realizada, pela baixa estabilidade deste pigmento durante a preparação e processamento de produtos alimentícios (Lopes *et al.*, 2007). Kidoy *et al.*, (1997) identificaram os teores de antocianinas (cianidina 3-glucósido, 97%, pequenas quantidades de cianidina 3,6,9-malonil glucósido e 1% de pelargonidina 3-glucósido) por combinação de técnicas de espectrometria e cromatografia na casca de maracujá-roxo. Jiménez *et al.* (2011), por meio de métodos cromatográficos compararam três diferentes graus de maturação de maracujá – roxo. Para o estágio 1 (fruto verde), não foi encontrado qualquer conteúdo mensurável, no estágio 2 o teor era significativamente maior, entretanto somente no estágio 3 determinaram a presença de cianidina-3-O- glucopiranosídeo (íon molecular em m/z 449.1039) comprovando o aumento do teor de antocianinas conforme a maturação dos frutos.

Dos processos industriais resulta a produção de milhares de toneladas de sementes durante a extração do sumo. Estas sementes acabam, ou sendo descartadas depois de serem esmagadas, ou aplicadas para suplementação animal (Jorge *et al.*, 2009).

As sementes do género *Passiflora* são uma boa fonte de óleo, hidratos de carbono, proteínas e sais minerais (Silva e Bottoli, 2015). Alves (2013) determinou serem os hidratos de carbono a fração maioritária presente nas sementes de maracujá-roxo 60%), e a gordura a segunda fração mais relevante – representando entre 21 e 26% - seguida pelas proteínas (10 – 13%).

Quanto ao óleo extraído das sementes, este é constituído por triglicéridos onde predominam ácidos gordos polinsaturados, além da vitamina E, esteróis, bem como compostos fenólicos, e pigmentos, como os carotenoides (Alves, 2013). Silva e Bottoli (2015) descrevera em diferentes espécies de *Passiflora* o ácido linoleico (ω -6) como um dos principais ácidos gordos deste óleo, encontrado em cerca de 55-66%, seguido pelo ácido oleico (18-20%) e do ácido palmítico (10-14%), apontando o óleo de semente de maracujá como um produto que pode ser utilizado na incorporação de alimentos e aplicado em cosméticos e produtos farmacêuticos. Giuffré (2007) estudou a composição química do óleo de maracujá-roxo e encontrou uma percentagem elevada de ácido linoleico (72,26%) no sugerindo que o óleo pode ser utilizado para fins industriais e como uma boa fonte de ácidos gordos essenciais. Alves (2013) estudou a composição do óleo da semente de maracujá-roxo produzidos no Norte de Portugal, encontrando nas amostras como ácido gordo maioritário o ácido linoleico, com valores médios entre 82 e 75%,

eseguido deste encontrou-se, por ordem de importância, o ácido palmítico (7,77 e 8,78%), oleico (7,62 e 12,94%) e o esteárico (1,12 e 1,79%).

Chau & Huang (2004) avaliaram e compararam a composição, as propriedades físico-químicas e efeito hipoglicemiante *in vitro* de diferentes frações ricas em fibras preparadas a partir das sementes de maracujá e concluíram que as frações ricas em fibras insolúveis mostraram efeitos significativos na absorção de glucose e retardamento da atividade da amilase, considerando portanto o grande potencial deste produto como um ingrediente para enriquecimento nos alimentos, bem como uma boa fonte de fibra alimentar.

A polpa do maracujá é basicamente constituída por água, hidratos de carbono e açúcares, tendo assim um elevado valor nutritivo. Apresenta também um elevado teor de potássio e vitaminas A, B6, C e E (Silva e Mercadante, 2002).

O aroma da polpa de maracujá é dado pela sua composição volátil. O aroma é uma mistura complexa de substâncias voláteis de diferentes classes químicas, variando de acordo com o ambiente, com as condições de tratamento e de processamento e com a maturação do fruto (Silva & Bottoli, 2015; Janzanti e Monteiro, 2014). Porto-Figueira *et al.* (2015) caracterizaram o perfil volátil de várias espécies e variedades de maracujá da ilha da Madeira (Portugal), e para o maracujá – roxo determinaram que os frutos possuem uma composição volátil dominada por três ésteres proeminentes - hexanoato de hexilo (17%), etil-hexanoato (13%) e butanoato de hexilo (11%); butanoato de etilo (7%) e acetato de etilo (7%) são também abundantes na fracção volátil deste fruto.

Relativamente à presença de compostos com propriedades antioxidantes, o género *Passiflora* possui importantes componentes com atividade antioxidante, e apesar da grande biodiversidade existente no Brasil e noutros países, e de haver um grande potencial a ser explorado, ainda existem poucos dados sobre a atividade antioxidante de extratos obtidos de resíduos da industrialização de frutas, que poderiam ser reaproveitados como boa fonte de nutrientes e compostos importantes para a saúde humana (Dhawan *et al.*, 2004).

Um antioxidante é qualquer substância capaz de retardar, estabilizar ou impedir danos causados pela presença dos radicais livres durante os processos de oxidação. Os radicais livres podem ser classificados, em geral, como moléculas orgânicas e inorgânicas que contêm um ou mais electrões não pareados com existência independente. Esta conformação faz dos radicais livres moléculas altamente instáveis e quimicamente muito reativas. Além disso, a presença desses radicais causa oxidação em sistemas biológicos,

danos celulares, peroxidação lipídica e consequentemente, prejuízos na saúde humana (Bianchi e Antunes, 1999; Silva *et al.*, 2010; Soares 2002).

Neste contexto, as frutas possuem na sua composição, diferentes compostos bioativos que são formados pelas reações bioquímicas que ocorrem durante o amadurecimento dos frutos, sendo que muitos deles apresentam capacidade antioxidativa. Dentre estes, pode-se citar as vitaminas C e E, carotenoides e compostos fenólicos, que contribuem para a capacidade antioxidante total das frutas e vegetais (Kahkonen *et al.*, 1999; Macoris *et al.*, 2012; Su e Chien, 2006).

Os compostos fenólicos são substâncias amplamente distribuídas nas frutas, vegetais e produtos industrializados. Podem ser pigmentos ou produtos do metabolismo secundário, com origem nas reações de defesa das plantas contra agressões do ambiente. Os compostos fenólicos podem atuar como antioxidantes por várias vias, tais como, eliminação de radicais livres, pela absorção de radicais de oxigênio e como quelantes de iões metálicos (Soares, 2002; Su e Chien, 2006; Zeraik *et al.*, 2010).

Os flavonóides compreendem um grupo de compostos fenólicos que se apresentam sob diversas classes como, por exemplo, flavonóis, flavonas, catequinas, antocianinas e isoflavonas. Na classe dos não-flavonóides estão os derivados dos ácidos hidroxicinâmico e hidroxibenzóico, sendo a atividade antioxidante destes compostos relacionada com a posição dos grupos hidróxilo e também com a proximidade do grupo $-CO_2H$ em relação ao grupo fenil. Dessa forma, quanto mais próximo este grupo estiver do grupo fenil, maior será a capacidade antioxidante do hidróxilo. Ácido ferúlico, ácido p-cumárico e ácido cafeico, são alguns exemplos da classe dos ácidos hidroxicinâmicos. Os ácidos fenólicos mais comuns encontrados em frutas na categoria dos hidroxibenzóico são os ácidos gálico, vanílico, elágico e sirínico (Bianchi e Antunes, 1999; Haminiuk *et al.*, 2012; Soares, 2002).

A Figura 1 apresenta exemplos da estrutura de alguns compostos flavonóides e não-flavonóides comumente encontrados.

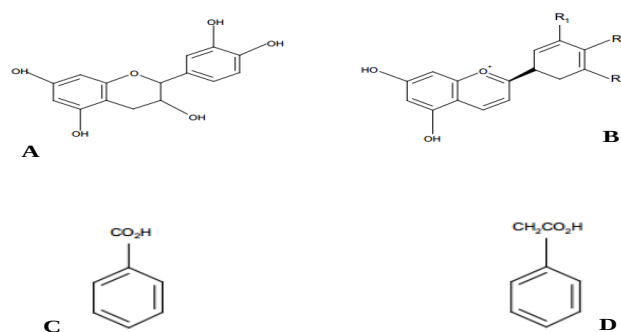


Figura 1. Exemplo da estrutura de alguns flavonóides (catequina (A) e antocianinas (B), e não-flavonóides (ácido hidrocínâmico (C) e ácido hidroxibenzóico (D)).

Fonte: Silva *et al.*, 2010.

O ácido ascórbico, também conhecido como vitamina C é extensivamente usado na indústria de alimentos pela sua ação antioxidante, além disso é essencial à saúde, desempenhando um papel importante no desenvolvimento e regeneração dos músculos, pele, dentes e ossos. A vitamina C é talvez cada vez mais investigada por ser um dos principais indicadores do valor nutritivo do sumo. No maracujá roxo, encontra-se 29,80 mg de ácido ascórbico 100 mL⁻¹ de sumo em média, este apresenta maior teor de vitamina C que o maracujá amarelo que possui 20,0 mg de ácido ascórbico 100 mL⁻¹ de sumo (Zeraik *et al.*, 2010).

Vasco *et al.* (2008) analisaram a atividade antioxidante das principais frutas do Equador, dentre elas o maracujá amarelo, usando três diferentes métodos: DPPH, FRAP (poder antioxidante de redução do ferro) e ABTS. Os autores verificaram baixo nível de substâncias fenólicas (61±32 mg expressos em equivalente de ácido gálico 100 g de amostra⁻¹), mas forte capacidade antioxidante (0,5±0,3 µmol Trolox g de amostra⁻¹). Noutro estudo, Septiembre-Malaterre *et al.* (2016) avaliaram propriedades antioxidantes da banana, lichia, manga, mamão, abacaxi e maracujá e os resultados apontaram o maracujá com os maiores teores de polifenóis (286,6 mg AG 100g⁻¹amostra) e flavonóis (70,1 mgQ 100g⁻¹) comparativamente aos demais frutos em estudo e concluíram que o maracujá é um fruto com grande potencial antioxidante, podendo atuar na desfeita do organismo durante perturbações metabólicas.

Contreras-Calderón (2011) determinaram a atividade antioxidante, conteúdo fenólico e teor de vitamina C de diferentes frutos nativos na Colômbia e encontraram grande capacidade antioxidante pelo método FRAP (poder antioxidante de redução do ferro) na

polpa e sementes dos géneros *Passiflora molissima* e *Passiflora tarminiana*, além de altos valores de componentes fenólicos totais. Malacrida e Jorge (2012) caracterizaram quimicamente e avaliaram a atividade antioxidante do óleo de semente maracujá-amarelo e pelo método DPPH encontraram valor de CE_{50} 10,62 g_{óleo} g_{DPPH}⁻¹. A quantidade antioxidante encontrada é considerada significativa e pode servir como uma fonte dietética de antioxidantes naturais, ajudando prevenir doenças, ou como um aditivo alimentar, aumentando a estabilidade e a qualidade dos produtos alimentares.

2.5. Formação e evolução do fruto

Todos os frutos apresentam três fases fisiológicas importantes: o crescimento, a maturação e a senescência. Durante essas etapas, diversos processos fisiológicos, bioquímicos e genéticos ocorrem, formando as características de cada fruto. O amadurecimento corresponde à fase final da maturação e em geral, é neste estágio que as frutas são transformadas em produtos atrativos e de qualidade para o consumidor, ou para passar por um processamento industrial (Nordey, 2016).

O processo de respiração é essencial no amadurecimento dos frutos, já que várias reações ligadas à respiração são responsáveis pela síntese de inúmeros compostos, tais como pigmentos e compostos fenólicos. Além disso, essas reações influenciam o tempo de vida de prateleira das frutas na pós-colheita, provocando modificações nos seus constituintes químicos, levando a perda de umidade e rápida senescência (Purvis, 1997; Schotsmans e Fischer, 2011).

O padrão de atividade respiratória em frutos pode ser dividido em frutos climatéricos e não climatéricos. O maracujá pertence aos dos climatéricos, e este grupo corresponde aos frutos que apresentam um pico na atividade metabólica na fase de amadurecimento, além da ocorrência de uma alta taxa de produção de etileno e uma elevada respiração, ou seja, são aqueles capazes de continuar o processo de maturação, uma vez removido da planta. O etileno é o responsável por induzir a maturação do fruto, e a respiração por degradar substâncias de reserva para o desenvolvimento do mesmo, como ácidos, açúcares e vitaminas (Flórez *et al.*, 2012; Nordey *et al.*, 2016; Shiomi *et al.*, 1995).

A composição química sofre mudanças mesmo dentro de uma mesma espécie de acordo com as condições em que o maracujazeiro está, bem como a exposição a ambientes desfavoráveis e condições adversas ao seu desenvolvimento (Cisneros-Zevallos, 2003). A temperatura, luz, umidade relativa e solo são fatores determinantes qualidade final do

maracujá, bem como suas características organolépticas. Relativamente a temperatura, a faixa entre 21 e 25 °C é considerada como a mais favorável ao crescimento da planta; regiões com altitudes entre 100 m a 1.000m são as mais indicadas para o cultivo do maracujazeiro; os solos mais adequados são os areno-argilosos, profundos e com boa disponibilidade de oxigênio. A luz também um fator importante no crescimento do maracujazeiro, já que provoca efeitos diretos sobre a fotossíntese. Normalmente, o aumento de horas de luz provoca uma atividade fotossintética maior, com acréscimo no vigor da planta, com consequente aumento no tamanho e na qualidade do fruto (Crisóstomo e Naumov, 2009; Fischer *et al.*, 2009). O modelo de cultivo também influencia na composição do fruto e nas transformações que ocorrem com a maturação. Pertuzatti *et al.* (2015) relataram que amostras de maracujá amarelo cultivadas no método biológico apresentaram maiores teores de tocoferóis (0,061 mg 100 g⁻¹ de fruta fresca) e ácido ascórbico (0,052 mg 100 g⁻¹ de fruta fresca) que as amostras cultivadas em sistema convencional (2,3X10² mg tocoferóis 100g⁻¹ e 1,9x10² mg ácido ascórbico 100g⁻¹).

Os índices de maturação compreendem a características de coloração da casca e alterações químicas que ocorrem ao longo do processo de maturação podendo-se citar a acidez titulável, sólidos solúveis, conteúdo de açúcares, rendimento em sumo, vitamina C e carotenoides totais do sumo. Estes índices são importantes para determinação do ponto de colheita e observação da qualidade dos frutos (Shiomi *et al.*, 1996; Coelho *et al.*, 2010).

Os poucos estudos relacionados que relacionam a influência do grau de maturação do fruto sua composição química, e qualidade e quantidade de compostos bioativos, estão voltados para a polpa e o sumo industrializado (Vianna-Silva *et al.*, 2008; Reolon *et al.*, 2009; Flórez *et al.*, 2012; Coelho *et al.*, 2009). Regis *et al.* (2011) avaliaram a influência do estágio de maturação sobre o rendimento e qualidade do óleo das sementes de maracujá em 2 estágios de maturação que foram identificados pelas medidas de coloração amarela de casca dos frutos. Os parâmetros avaliados foram umidade das sementes, o rendimento em óleo, a composição percentual de ácidos gordos, índice de acidez, índice de peróxidos, índice de saponificação, índice de iodo e estabilidade oxidativa. O estudo concluiu que as sementes provenientes dos frutos maduros de maracujá-amarelo apresentaram apenas uma tendência de maior rendimento de óleo e maior índice de iodo, sendo que as sementes dos frutos do estágio intermediário apresentaram tendência de maior estabilidade oxidativa.

Silva *et al.* (2005) avaliaram a influência dos estágios de maturação sobre as características químicas do sumo de maracujá-amarelo através da colorimetria da casca. As análises químicas realizadas no sumo foram o conteúdo de matéria seca, teores de sólidos solúveis teor de acidez titulável, expressa em % de ácido cítrico e o pH. O presente estudo conclui que a casca do maracujá apresentou um aumento dos parâmetros de Hunter *L* (luminosidade) e Hunter *b* (amarelecimento) durante a maturação. Além disso, observou-se que o conteúdo de SST do sumo aumentou até os 76 dias após a antese (65% de cor amarela da casca), permanecendo constante após este grau de maturação do fruto. Os ácidos orgânicos acumularam-se antes do início da maturação e foram parcialmente consumidos durante o amadurecimento. Noutro estudo, Jimenéz *et al.*, (2011) analisaram o conteúdo de sólidos solúveis totais, acidez titulável e o pH do maracujá-roxo em três estágios de maturação diferentes, observando que o pH e sólidos solúveis totais aumentaram lentamente enquanto a acidez titulável diminuiu. A primeira constatação para qual os autores atribuíram este padrão é devido à hidrólise de amido em açúcares durante o amadurecimento da fruta. A acidez varia devido ao consumo de ácidos orgânicos por causa da respiração do fruto neste processo.

Durante o período pós-colheita e armazenamento também ocorrem alterações de qualidade que podem comprometer a comercialização do fruto bem como sua correta designação nos processos industriais, já que o maracujá-roxo continua seu processo respiratório mesmo após abscisso. Portanto, é importante observar as condições de temperatura, umidade relativa e embalagem que serão utilizadas para a conservação do fruto, afim de garantir uma maior vida de prateleira (Schotsmans e Fischer, 2011).

CAPÍTULO 3

Materiais e Métodos

3. Materiais e Métodos

3.1. Obtenção e preparação das amostras

A colheita de todos os frutos utilizados neste estudo, nos distintos graus de maturação, foi feita num único dia e na mesma ocasião, em Outubro de 2015, numa propriedade situada na encosta da margem esquerda do rio Vizela (41° 33'913'' N; 8°41'509'' W), a cerca de 384 m de altitude e virada a nordeste, na freguesia de São Tomé de Negrelos, município de Santo Tirso, em Portugal. O modo de cultivo é convencional e de regadio.

Os maracujás-roxos frescos (*Passiflora edulis* Sims *edulis*) foram transportados até ao laboratório em caixas plásticas aptas para produtos hortofrutícolas no prazo de duas horas e foram de imediato colocados em frigorífico ($4 \pm 2^\circ \text{C}$).

No dia seguinte, os maracujás foram separados em cinco grupos, com distintos graus de maturação, de acordo com a coloração exterior e o enrugamento da casca. Dessa forma, no grupo G1 incluíram-se os frutos com cor completamente verde, no grupo G2 os frutos com casca com cor de fundo verde, mas com pigmentação roxa já evidente, no grupo G3 os frutos com mais de 50% da casca pigmentada de roxo, mas com pontos ainda verdes, no grupo G4 os frutos com a casca completamente roxa, e no grupo G5 os frutos cuja casca se apresentava com coloração roxa escura e com a casca enrugada (Figura 2).

Cada grupo foi pesado e segregado para posterior preparação.

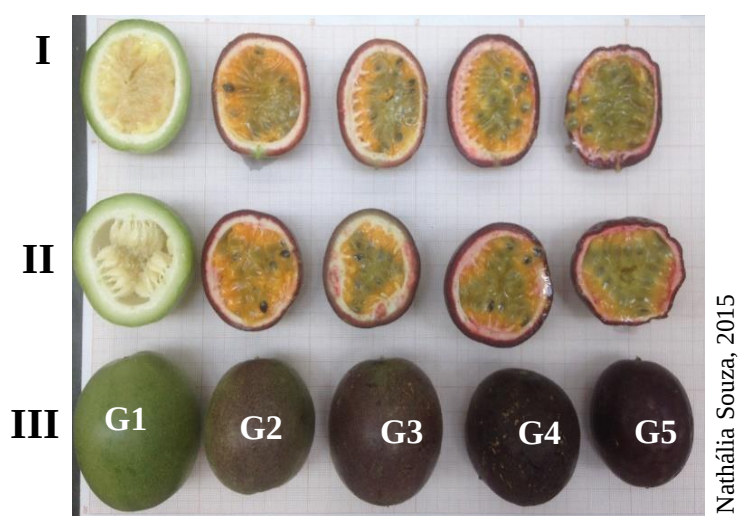


Figura 2. Frutos de maracujá-roxo em distintos graus de maturação, apresentados em corte longitudinal (I), equatorial (II) e como fruto inteiro (III); Os frutos estão dispostos, da esquerda para a direita, do mais verde até ao mais maduro.

De cada grupo, foram seleccionados, aleatoriamente, 10 frutos inteiros para determinação da massa, cor da casca e dimensões. Posteriormente, esses frutos foram separados em duas partes - casca e polpa (sumo com sementes) - e sobre a polpa conjunta de 10 frutos, em cada um dos cinco graus de maturação, foi realizada a determinação da cor, pH, acidez titulável e teor de sólidos solúveis totais.

Os restantes frutos foram de imediato cortados, foi-lhes separada a casca da polpa e nesta, foram separadas, cuidadosa e individualmente, todas as sementes. As sementes foram então passadas por água, escorridas e secas em papel absorvente. Depois foram congeladas (-20° C) e liofilizadas. Também as cascas e as polpas dos frutos de todos os graus de maturação foram nessa ocasião congeladas e liofilizadas, tendo todas estas amostras sido guardadas em excicador e ao abrigo da luz até utilização.

3.2. Caracterização do fruto inteiro

3.2.1. Massa e dimensões

Os maracujás foram pesados individualmente em balança analítica (Kern ACJ/ACS 220-4M).

Em seguida, mediu-se o comprimento e a largura de cada fruto com o auxílio de uma craveira (Figura 3).



Figura 3. Execução da medição do comprimento e da largura dos frutos.

3.2.2. Cor

Para a análise da cor dos maracujás nos diferentes graus de maturação, utilizou-se um colorímetro Konica Minolta modelo CR-400 (Osaka, Japan) a operar na escala

CIELAB (L^* , a^* e b^*), onde L^* fornece a luminosidade, variando de 0 a 100 (preto a branco); a^* indica coloração do verde (valores negativos) ao vermelho (valores positivos) e b^* indica a coloração do azul (valores negativos) ao amarelo (valores positivos).

Foram realizadas duas leituras em duas áreas diferentes do fruto, ambas na zona equatorial, , para os dez frutos amostrados.

3.3. Caracterização da casca

3.3.1. Teor de umidade

Inicialmente, as cascas de todos os frutos foram separadas da polpa e imediatamente pesadas e congeladas em sacos de congelação. Em seguida foram liofilizadas, novamente pesadas e armazenadas ao abrigo da luz, para posterior utilização. O valor da umidade foi determinado para cada grupo como um todo, pelo rendimento de liofilização.

3.3.2. Teor de cinza bruta

Esta determinação foi feita por calcinação das amostras (cerca de 0,5 g) em mufla a 550 °C. . As amostras – colocadas em cadinhos previamente calcinados - permaneceram na mufla até assegurar-se a combustão completa. Os cadinhos foram arrefecidos em dessecador e, em seguida, pesados. A determinação foi realizada em duplicado e os resultados obtidos foram expressos em percentagem de cinza (em base seca), de acordo com a fórmula:

$$\%cinza = \frac{Pf - Pi}{massa\ de\ amostra} \times 100$$

Onde:

Pi = peso inicial do cadinho calcinado e vazio

Pf = peso final do cadinho

3.3.3. Teor de proteína bruta

A determinação da quantidade de proteína bruta foi realizada pelo método de Kjeldahl, como descrito na norma AOAC 920.152 (AOAC, 2000), o qual determina o teor de azoto na amostra a partir da mineralização da matéria orgânica por ácido sulfúrico,

na presença de um catalisador, fazendo a transformação do azoto em sal de amónio. O amoníaco é libertado em meio alcalino, destilado, recolhido em meio ácido e titulado.

Dessa forma, foi pesado 1,0 g de amostra liofilizada e triturada em tubo de digestão, sendo adicionadas duas pastilhas de catalisador (3,5 g de selénio) e 15 mL de ácido sulfúrico concentrado. A digestão foi feita a 400 °C durante 45-50 min. O tubo de digestão foi colocado no aparelho de Kjeldahl (Velp Scientifica UDK 152), o qual faz titulação automaticamente com ácido clorídrico 0,5 N. Através do fator de conversão universal (6,25), converteram-se os valores percentuais de azoto obtidos em valores percentuais de proteína bruta. Os valores foram obtidos em triplicado e expressos em percentagem de proteína em base seca.

3.4. Caracterização das sementes

3.4.1. Teor de umidade

A metodologia seguida foi a mesma descrita anteriormente na seção 3.3.1.

3.4.2. Teor de cinza bruta

A metodologia seguida foi a mesma descrita anteriormente na seção 3.3.2.

3.4.3. Teor de proteína bruta

A metodologia seguida foi a mesma descrita anteriormente na seção 3.3.3.

3.4.4. Teor de gordura bruta

A metodologia para a extração de gordura foi realizada a partir do descrito na norma AOAC 948.22 (2000), por extração em extrator Soxhlet com refrigeração de refluxo, com éter de petróleo e por um tempo de extração de 18 h.

Num triturador, cerca de 5 g de amostra liofilizada foram trituradas e inseridas em cartucho feito de papel filtro, colocada no Soxhlet e adicionada de solvente para que pudesse dar início ao processo de extração. Finalizado o tempo de 18 h, o solvente foi removido e quantificou-se a gordura. Os resultados foram expressos em percentagem em de gordura em base seca, através da equação:

$$\%gordura = \frac{Pf - Pi}{massa da amostra} \times 100$$

Sendo:

Pi = Peso do balão seco e vazio

Pf = Peso do balão, com gordura, após extração

3.5. Caracterização da polpa

Esta caracterização foi feita sobre a polpa desprovida de sementes, pelo que, daqui para a frente, todos os resultados deste trabalho relativos à polpa referem-se à polpa sem sementes.

3.5.1. Teor de umidade

O teor de umidade foi realizado em duplicado, a partir do rendimento de liofilização.

3.5.2. Determinação da cor

A determinação da cor na polpa de maracujá nos cinco graus de maturação diferentes (Figura 4) foi feita de acordo com a metodologia descrita na seção 3.2.2, apenas com uma ligeira modificação, em que foi usado um adaptador específico para realizar a leitura com amostras líquidas.

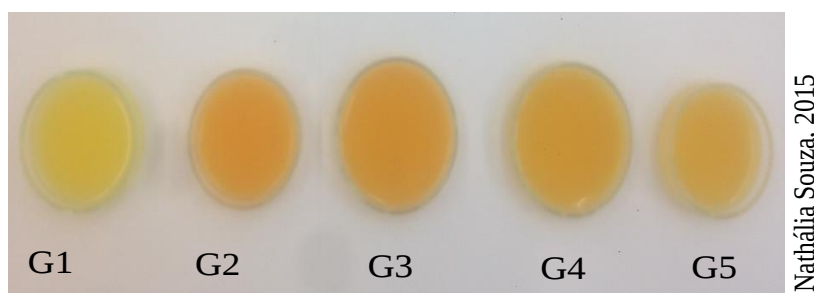


Figura 4. Fotografia no momento da leitura, que evidencia a cor das polpas de maracujás dos diferentes graus de maturação, do mais verde ao mais maduro, da esquerda para a direita.

3.5.3. Teor de cinza bruta

A metodologia seguida foi a mesma descrita anteriormente na seção 3.3.2.

3.5.4. Teor de proteína bruta

A metodologia seguida foi a mesma descrita anteriormente na seção 3.3.3.

3.5.5. pH

Nesta determinação, 2 mL de sumo previamente filtrado foi diluído em balão volumétrico de 20 mL. A leitura do pH foi realizada por potenciometria (pH 210, HANNA Instruments, Rhode Island, USA), em triplicado. A calibração do equipamento foi realizada com soluções tampão comerciais de pH = 7,01 e pH = 4,01, à temperatura ambiente. Os resultados foram expressos em mg de ácido cítrico 100 mL⁻¹ de polpa fresca.

3.5.6. Acidez titulável

Para este parâmetro, seguiu-se a metodologia descrita na norma portuguesa NP 1421 (1977) Determinação da acidez titulável em géneros alimentícios derivados de frutos e de produtos hortícolas.. Diluíram-se 2 mL de polpa previamente filtrada em balão volumétrico de 20 mL e titulou-se o preparado com NaOH 0,1 M até pH entre 8,0 e 8,3 com auxílio de um potenciômetro. Foram realizados ensaios por triplicado para cada grau de maturação. A acidez titulável foi determinada por interpolação para pH 8,1, sendo expressa em g ácido cítrico 100 mL⁻¹ de polpa fresca.

3.5.7. Teor de potássio e teor de magnésio

Estes elementos minerais vêm descritos na literatura (Rodríguez-Amaya, 2012; Schotsmans e Fischer, 2011; Zeraik *et al*, 2010) como sendo, de longe, os mais relevantes em termos quantitativos na polpa de maracujá-roxo, tendo sido determinados por espectrofotometria de absorção atômica com chama (Pye Unicam PU9100X- FAAS). Para tal, obteve-se de início a curva de calibração para o magnésio (Mg) através de solução comercial do mesmo a uma concentração de 10 g/L adicionado de 1 mL CLCs e para o potássio (K) com solução comercial a uma concentração de 10 g/L com adição de 1 mL de La(NO₃)₃.6H₂O. A cinza bruta obtida aquando da sua quantificação na polpa foi recuperada com cerca de 2 mL de ácido nítrico e diluída em balão volumétrico de 20 mL com água desionizada. Adicionou-se então 1 mL de CLCs e de La(NO₃)₃.6H₂O em cada

amostra e procedeu-se à aspiração. A determinação foi realizada em duplicado para cada grau de maturação e os resultados destas quantificações foram expressos em partes por milhão (ppm).

3.5.8. Teor de sólidos solúveis

O teor de sólidos solúveis totais (SST), expressos em °Brix, corresponde à percentagem, de sólidos dissolvidos num produto (açúcares, polissacarídeos, proteínas, minerais). Desta forma, os SST foram determinados por refratometria, num refratómetro portátil (ZAZI C72070). As leituras foram executadas da seguinte forma: após calibração com água destilada, algumas gotas da polpa filtrada eram colocadas sobre o prisma inferior, limpo e seco, com o auxílio de uma pipeta de Pasteur. O prisma era fechado, e procurava-se na ocular a linha de separação entre a região iluminada e a região escura, e quando a linha de separação se posicionava na divisão entre as duas regiões, exatamente no centro do retículo, procedia-se à leitura. Foram realizados triplicados para cada grau de maturação.

3.5.9. Identificação e quantificação de açúcares e ácidos orgânicos

A determinação quantitativa e qualitativa de açúcares e ácidos orgânicos na polpa foi realizada por cromatografia líquida de alta resolução (HPLC). Inicialmente, procurou-se na literatura os açúcares e os ácidos orgânicos que já tinham sido identificados na polpa de maracujá, definindo os que seriam determinados neste trabalho. Assim, estabeleceu-se a pesquisa e eventual quantificação dos seguintes ácidos orgânicos e açúcares: ácido cítrico, ácido málico, ácido ascórbico, ácido tartárico, ácido oxálico, ácido malônico, ácido succínico e ácido quínico, sacarose, maltose, glucose e frutose.

Depois destes ensaios prévios, decidiu-se fazer a quantificação apenas aos três açúcares maioritários (frutose, glucose e sacarose) e aos ácidos maioritários presentes que puderam ser tenativamente identificados (ácidos cítrico, málico e ascórbico).

Os padrões foram preparados pesando-se 1 g de sacarose, glucose e maltose diluídos em balão volumétrico de 20 mL com água desionizada e 1,2 g de ácido ascórbico, ácido málico e ácido cítrico diluídos em balão volumétrico de 20 mL com água desionizada. Posteriormente, para a construção da curva de calibração preparou-se um *mix* com os seis compostos em diferentes concentrações que variaram de 0,1 g L⁻¹ a 6 g L⁻¹ para os açúcares e 0,1 g L⁻¹ a 7 g L⁻¹ para os ácidos orgânicos. As amostras foram

preparadas diluindo-se 1 mL de amostra em balão volumétrico de 10 mL com água desionizada e filtradas por membrana de 20 µm de poro.

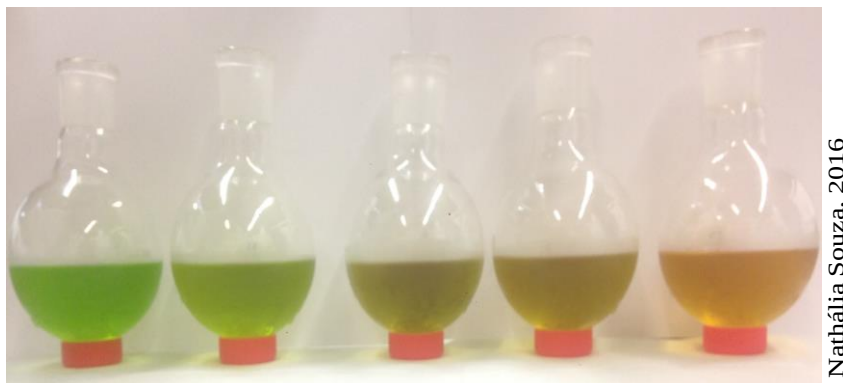
O sistema HPLC era composto por um injetor manual (Rheodyne 7725I), com *loop* de 20 µL, forno para a coluna termostatizado a 30° C (Jones Chromatography 7981), uma bomba (Varian 220), um detetor de índice de refração (Varian RI-4) para a detecção dos açúcares e um detetor UV (Varian 9050) para a detecção dos ácidos ($\lambda = 215$ nm). Os dados cromatográficos foram analisados pelo *software* Star Chromatography Workstation Varion (versão 4.5) e Star Chromatography Workstation Varian 6.41. A separação cromatográfica foi realizada numa coluna Supelco 30 cm × 7,8 mm (ID 59320-U). A fase estacionária era composta de esferas de 9 µm de polieestireno divinilbenzeno sulfonado. O eluente utilizado foi uma solução de ácido orto-fosfórico 0,1%, e o fluxo de eluição era 0,5 mL.min⁻¹. A quantificação foi feita com base nas áreas cromatográficas de cada composto, recorrendo a curvas de calibração para todos os compostos em estudo. Os resultados foram expressos em g L⁻¹ de polpa fresca.

3.6. Atividade antioxidante

3.6.1. Preparação dos extratos

Inicialmente, separaram-se aleatoriamente três pequenas porções das amostras liofilizadas para que fossem realizadas três extrações para cada grau de maturação. Pesou-se cerca de 1,5 g de cada amostra e acrescentou-se 45 mL de metanol. O preparado foi levado à agitação por 60 min a 350 rpm. Após este período, filtrou-se o extrato, sendo repetida a mesma operação mais duas vezes, e os extratos recolhidos num balão de fundo redondo de 250 mL (Figura 5).

Após a extração, o solvente foi evaporado a vácuo (evaporador rotativo Stuart RE300DB) e, posteriormente o extrato foi levado à secura numa estufa à temperatura de 40±5 °C. Por fim, o resíduo no balão foi re-dissolvido em metanol de modo a obter uma concentração de 50 mg mL⁻¹ para a casca e sementes e 100 mg mL⁻¹ para o sumo. A partir da solução mãe obtida prepararam-se soluções com diferentes concentrações, que variaram entre 0,01 e 5 mg mL⁻¹ (casca e semente) e 1 e 50 mg mL⁻¹ para a polpa.



Nathália Souza, 2016

Figura 5. Fotografia exemplificativa do aspeto dos extratos metanólicos das polpas nos diferentes graus de maturação, do mais verde ao mais maduro, da esquerda para a direita.

3.6.2. Rendimento de extração

Para o cálculo do rendimento de extração, utilizou-se a equação:

$$\% \text{ Rendimento} = \frac{Pf - Pi}{\text{massa da amostra}} \times 100$$

Sendo:

Pf= Peso final do balão volumétrico

Pi = Peso inicial do balão seco e vazio

3.6.3. Atividade Sequestradora do radical DPPH

A determinação da atividade sequestradora realizada pelo 2,2-difenil-1-picrilhidrazilo (DPPH) foi verificada de acordo com o procedimento de Malheiro *et al.* (2012). Para tal, a 0,3 mL de cada concentração testada foram adicionados 2,7 mL de uma solução metanólica de DPPH ($6 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$). Após agitação, as amostras ficaram durante 60 min ao abrigo da luz para que os valores da absorvância se tornassem estáveis. Preparou-se da mesma forma um branco, com a amostra substituída por 0,3 mL de metanol. A monitorização da redução dos radicais de DPPH foi medida por espectrofotometria (GENESYS 10 UV, Thermo Scientific) a um comprimento de onda (λ) de 517 nm. A leitura foi realizada em duplicado para cada concentração testada para os três extratos de cada amostra do fruto de maracujá nos cinco estados de maturação (polpa, casca e semente).

A percentagem de inibição foi calculada pela descoloração da solução com DPPH (Figura 5), a partir da equação:

$$\% \text{ Inibição} = \left(\frac{Abs_{branco} - Abs_{amostra}}{Abs_{branco}} \right) \times 100$$

Onde: Abs_{branco} corresponde à absorvância da solução de DPPH; $Abs_{amostra}$ à absorvância da solução com o extrato de cada amostra. A concentração de extrato que promove 50% de inibição (CE_{50}) foi calculada por percentagem do efeito bloqueador em função da concentração de extrato da análise, analisada por representação gráfica.



Figura 6. Visualização da solução de DPPH com concentrações crescentes de extrato (da esquerda para a direita).

3.6.4. Atividade sequestradora do radical ABTS ($ABTS^{*+}$)

A formação do radical ABTS [2,2'-azinobis-(3-etilbenzotiazolina-6-ácido sulfônico)] é um método descrito por Re *et al.* (1999), com base na capacidade de uma amostra em inibir o radical ABTS ($ABTS^{*+}$). A reação química do ABTS com persulfato de potássio ($K_2S_2O_8$), permite a formação dos radicais $ABTS^{*+}$.

Para esta determinação, o $ABTS^{*+}$ (7 mM) foi enriquecido com $K_2S_2O_8$ (140 mM), deixando-se repousar no escuro à temperatura ambiente por um período de 12 a 16 h. Após este período, um volume definido dessa solução foi dissolvido em etanol até a obtenção de uma solução ajustada à absorvância $0,70 \pm 0,02$ a $\lambda = 734$ nm. Para cada 100 μ L das diferentes concentrações de extrato testadas foram adicionados 2 mL da solução. Preparou-se em conjunto um branco com 100 μ L de etanol em substituição da amostra. A leitura foi realizada em duplicado para cada concentração testada para os três extratos de cada amostra do fruto de maracujá nos cinco estados de maturação (polpa, casca e semente).

A percentagem de inibição dos radicais de ABTS foi calculada pela descoloração da solução (Figura 7) a partir da equação:

$$\% \text{ Inibição} = \left(\frac{Abs_{\text{solução ajustada}} - Abs_{\text{amostra}}}{Abs_{\text{solução ajustada}}} \right) \times 100$$

Onde: $Abs_{\text{solução ajustada}}$ corresponde ao valor de absorvância $0,70 \pm 0,02$; Abs_{amostra} ao valor da amostra em solução ABTS. A concentração de extrato que promove 50% de inibição (CE_{50}) foi calculada por percentagem do efeito bloqueador em função da concentração de extrato da análise, analisada por representação gráfica.

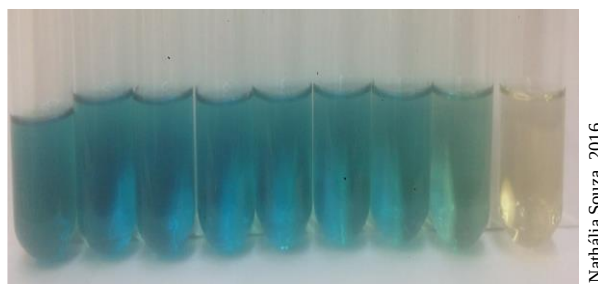


Figura 7. Visualização da solução de ABTS com concentrações crescentes de extrato (da esquerda para a direita).

3.6.5. Determinação do poder redutor

A determinação da capacidade do agente redutor (antioxidante), foi baseada na metodologia descrita por Berker et al. (2007). Dessa forma, 1 mL das diferentes concentrações de extrato de cada amostra foram misturados com 2,5 mL de tampão de fosfato de sódio 200 mmol L^{-1} (pH 6,6) e 2,5 mL de ferricianeto de potássio a 1%. O preparado foi agitado vigorosamente e incubado a 50°C durante 20 min. Após arrefecer foram adicionados 2,5 mL de ácido tricloroacético (10%) e novamente foram agitadas vigorosamente. Em seguida retirou-se 2,5 mL de sobrenadante e misturou-se com 2,5 mL de água destilada e 0,5 mL de cloreto férrico (0,1%). A absorvância foi lida em duplicado para cada concentração para cada parâmetro a $\lambda = 700 \text{ nm}$ após 6 min de repouso da última agitação.

Quanto maior a absorvância maior é o poder redutor da amostra (Figura 8). A partir do gráfico que relaciona a absorvância a 700 nm *versus* concentração de extrato

determinaram-se também as concentrações que originaram uma absorvância igual a 0,5, correspondente ao valor do CE_{50} .



Figura 8. Poder redutor com concentrações crescentes de extrato (da esquerda para a direita).

3.6.6. Avaliação dos diferentes grupos fenólicos

Pretendeu-se determinar com esta análise a composição do sumo, casca e semente em fenóis totais, derivados do ácido hidroxicinâmico e flavonóis, através da metodologia descrita por Boulanouar et al. (2013). Para tal, foram adicionados 1 mL de uma solução de etanol a 96% contendo 0,1% de ácido clorídrico a 2% em 1 mL das concentrações do extrato (0,5 e 1 mg mL^{-1} para casca e semente e 10 e 20 mg mL^{-1} para o sumo), em seguida, adicionaram-se 8 mL de ácido clorídrico a 2% sendo então agitado vigorosamente. Os valores da absorvância foram lidos em duplicado a $\lambda = 280 \text{ nm}$ para a determinação dos fenóis totais, utilizando ácido gálico (AG) como padrão (0,001 e 1 mM), $\lambda = 320 \text{ nm}$ para determinar os derivados do ácido hidroxicinâmico (DAH), usando do ácido cafeico (AC) como padrão (0,001 e 1 mM), e a $\lambda = 360 \text{ nm}$ para definir os flavonóis, usando a quercetina (Q) como padrão (0,001 e 0,5 mM). Os resultados foram expressos em mg equivalentes do respetivo padrão usado por grama de extrato: mg AG g^{-1} ; mg AC g^{-1} ; e mg Q g^{-1} .

3.7. Análise estatística

Uma análise de variância (ANOVA) com uma soma dos quadrados Tipo III foi realizada usando o GLM (procedimento General Linear Model) do software SPSS, versão 20.0 (IBM Corporation, Nova Iorque, E.U.A.). O cumprimento dos requisitos da ANOVA, nomeadamente a distribuição normal dos resíduos e a homogeneidade de variâncias, foram avaliados através do teste de Kolmogorov-Smirnov com correção de Lilliefors (se $n > 50$) ou pelo teste de Shapiro-Wilk's (se $n < 50$), e pelos testes de Levene,

respetivamente. Todas as variáveis dependentes foram analisadas através de uma análise de variâncias univariada (one-way ANOVA) com ou sem a correção de Welch, dependendo se o requisito da homogeneidade de variâncias foi cumprido ou não. Se um efeito estatístico significativo foi encontrado, as médias foram comparadas usando o teste de Tukey de comparações múltiplas ou o teste de Dunnett T3 também dependendo se a igualdade de variâncias pôde ser assumida ou não. Todos os testes foram realizados com um nível de significância de 5%.

A análise de regressão, utilizando o Excel da Microsoft Corporation, foi utilizada nas diferentes partes que compõem o maracujá-roxo durante a maturação entre os valores de CE_{50} da atividade sequestradora de radicais DPPH e ABTS, e poder redutor, com o teor em fenóis totais, para verificar a existência de correlações entre a atividade antioxidante e o teor em fenóis durante a maturação.

CAPÍTULO 4

Resultados e Discussão

4. Resultados e Discussão

4.1. Caracterização física do fruto

O maracujá-roxo é um fruto climatérico e assim, durante sua ontogenia passa por importantes transformações fisiológicas que alteram suas características físico-químicas. A sua respiração e produção de etileno continuam mesmo após a colheita, diminuindo sua vida útil (Schotsmans e Fischer, 2011). A Tabela 2 apresenta os valores médios obtidos para as amostras nos diferentes graus de maturação.

Tabela 2. Médias dos diâmetros longitudinal e equatorial, peso fresco e rendimento em polpa com sementes do maracujá-roxo em diferentes graus de maturação (média $\pm$ desvio padrão; n=10).

Graus de maturação	Diâmetro longitudinal (mm)	Diâmetro equatorial(mm)	Peso fresco(g)	Rendimento da polpa (%)
Grupo G1	28,7 $\pm$ 2,16b	25,3 $\pm$ 2,11b	45,9 $\pm$ 5,2b	18,5 $\pm$ 13,24a
Grupo G2	25,3 $\pm$ 1,94a	21,2 $\pm$ 1,38a	46,5 $\pm$ 5,03b	53,6 $\pm$ 2,81b
Grupo G3	24,4 $\pm$ 2,56a	22,5 $\pm$ 2,61a,b	48,4 $\pm$ 6,66b	53,1 $\pm$ 6,33b
Grupo G4	25,8 $\pm$ 2,81a	22,6 $\pm$ 2,25a,b	45,9 $\pm$ 4,77b	53,3 $\pm$ 5,36b
Grupo G5	46,9 $\pm$ 1,52c	42,3 $\pm$ 2,73c	36,1 $\pm$ 5,73a	59,9 $\pm$ 3,66c
Valor de P	<0,001*	<0,001*	<0,001*	<0,001**

a-c Para cada parâmetro analisado, dentro de uma mesma coluna valores médios com letras diferentes diferem significativamente ($P < 0,05$); * $P > 0,05$ através do teste de Levene. Os valores de P são aqueles obtidos através da análise de variâncias univariada (one-way ANOVA). As médias foram comparadas usando o teste de Tukey pois uma igualdade de variâncias pôde ser assumida; ** $P < 0,05$ através do teste de Levene. Os valores de P são aqueles obtidos através da análise de variâncias univariada (one-way ANOVA) com correção de Welch. As médias foram comparadas usando o teste de Dunnett T3 pois uma igualdade de variâncias não pôde ser assumida.

Uma grande variabilidade morfológica das amostras de maracujá-roxo tornou difícil a padronização das características físicas dos frutos ao longo da maturação. Contudo, foi possível criar grupos consistentes e com uma baixa dispersão em termos de dimensões. Observa-se que o diâmetro longitudinal difere significativamente do grupo G1 para os demais ($P < 0,001$), os grupos G2, G3 e G4 não diferem entre si e são significativamente diferentes do grupo G5 ($P < 0,001$). O diâmetro equatorial exibiu pequenas diferenças entre os graus G1 a G4, com diferenças significativas entre os grupos G1 e G2 ($P < 0,001$). Um aumento expressivo do diâmetro ocorreu no grau G5 (42,3 mm), sendo este significativamente diferente dos demais ($P < 0,001$).

O peso fresco manteve-se próximo entre os grupos G1 a G4, com valores médios entre 45,9 e 48,4 g. O grupo G5 que foi significativamente menor que os demais ($P < 0,001$) apresentou uma queda no peso fresco para um valor médio de 36,1 g.

Relativamente ao rendimento em polpa, o grupo G1 mostrou um rendimento bem inferior ao demais (18,5%), o conjunto dos grupos G2 e G3 e G4 não apresentaram diferenças no seu rendimento e apesar do grupo G5 ter o menor valor médio de peso fresco (36,1 g) o seu rendimento em polpa foi significativamente maior comparado aos outros grupos ($P < 0,001$). O efeito do aumento da polpa com a diminuição do peso total está associado à perda de água que acontece principalmente a partir da casca, evidenciada pela diminuição da firmeza e enrugamento característico do fruto (Schotsmans e Fischer, 2011). Esta tendência também foi observada por Vianna-Silva *et al.* (2007) em diferentes graus de maturação do maracujá-amarelo.

4.1.1. Cor das cascas

A cor é um dos principais parâmetros de determinação na maturidade de um fruto, além de ser um fator importante para o consumidor no momento de adquirir o produto. A mudança de cor durante o amadurecimento da fruta é devido a degradação da clorofila e síntese de diferentes tipos de antocianinas e a sua acumulação no vacúolos, bem como também carotenoides tais como β -caroteno, ésteres de xantofila, xantofilas e licopeno (Flórez *et al.*, 2012; Prassana *et al.*, 2007 Schotsmans e Fischer, 2011; Vianna-Silva *et al.*, 2008). Na Tabela 3 são apresentados os valores dos eixos principais do CIELAB, L^* , a^* e b^* obtidos dos diferentes grupos de amostras.

Tabela 3. Colorimetria das faces do maracujá-roxo nos diferentes graus de maturação (média $\pm$ desvio padrão; $n = 10$).

Graus de maturação	a^*	b^*	L^*
Grupo G1	$-13,0 \pm 1,42a$	$23,1 \pm 2,35d$	$51,7 \pm 2,21e$
Grupo G2	$-1,8 \pm 3,83b$	$14,1 \pm 4,13c$	$43,1 \pm 3,46d$
Grupo G3	$3,8 \pm 3,25c$	$7,8 \pm 2,95b$	$38,0 \pm 3,96c$
Grupo G4	$6,2 \pm 1,87c$	$4,5 \pm 2,17a$	$31,8 \pm 3,41b$
Grupo G5	$4,8 \pm 4,84c$	$10,6 \pm 3,96b,c$	$8,7 \pm 2,41a$
Valor de P	$<0,001^{**}$	$<0,001^{**}$	$<0,001^*$

* $P > 0,05$ através do teste de Levene. Os valores de P são aqueles obtidos através da análise de variâncias univariada (one-way ANOVA). As médias foram comparadas usando o teste de Tukey pois uma igualdade de variâncias pôde ser assumida; ** $P < 0,05$ através do teste de Levene. Os valores de P são aqueles obtidos através da análise de variâncias univariada (one-way ANOVA) com correção de Welch. As médias foram comparadas usando o teste de Dunnett T3 pois uma igualdade de variâncias não pôde ser assumida;

Para cada parâmetro analisado, dentro de uma mesma coluna valores médios com letras diferentes diferem significativamente ($P < 0,05$).

No espaço psicrométrico CIELAB, as cores são descritas pelo parâmetro L^* luminosidade em uma escala que varia de 0 a 100 (preto a branco), coordenada a^* (conteúdo de vermelho a verde) e coordenada b^* (conteúdo de amarelo a azul). O parâmetro L^* diminuiu progressivamente conforme o avanço da maturação, especialmente entre os grupos G4 e G5 (31,8 para 8,7 respectivamente) encontrando-se diferenças significativas em L^* entre todos os grupos ($P < 0,001$). A luminosidade diminui pelo escurecimento que o fruto sofre à medida que a cor roxa se desenvolve pela síntese de pigmentos como as antocianinas (Flórez *et al.*, 2012). Os valores obtidos para o parâmetro a^* aumentaram com a maturação, representando a transição da cor verde (valores negativos) para vermelho. Não houve diferenças entre os grupos G3, G4, G5 e os grupo G1 e G2 diferiam significativamente entre si e dos demais ($P < 0,001$). Para o parâmetro b^* , a cor amarela diminuiu com a maturação e sofreu um aumento no grupo G5, isso pode ser justificado pelas diferenças nas cores nos diferentes pontos do fruto ao longo da trajetória de mudança de cor da casca.

As mudanças de cor da casca estão relacionadas com a degradação da clorofila, um processo natural e desejável na maioria dos frutos tropicais (Kader e Yahia, 2011) e síntese de antocianinas, que são pigmentos amplamente encontrados nos frutos e vegetais, com uma estrutura química baseada em uma estrutura policíclica de quinze carbonos, variando a sua cor conforme ocorre substituições dos grupos hidroxila e metoxila na molécula (Lopes *et al.*, 2007). Jiménez *et al.* (2011), caracterizaram essa mudança ao longo de três graus maturação pela quantificação do conteúdo total de antocianinas representado pelo teor de cianidina-3-glucósido, reportando não existência no fruto verde, 0,45 g ci-3-glu kg fruto⁻¹ e 1,73 g ci-3-glu kg fruto⁻¹ no fruto intermediário e maduro respectivamente.

4.2. Composição centesimal da casca

A composição centesimal (cinza e proteína bruta) das cascas de maracujá-roxo, ao longo da maturação foi avaliada e os resultados obtidos para o teor em cinzas e proteína bruta são apresentados na Tabela 4.

Tabela 4. Valores percentuais em base seca de cinzas e proteína da casca de maracujá-roxo nos diferentes graus de maturação (média $\pm$ desvio padrão; n=3).

Graus de maturação	Cinzas	Proteína Bruta
Grupo G1	4,2 $\pm$ 0,02a	9,1 $\pm$ 0,16d
Grupo G2	6,0 $\pm$ 0,01b	6,9 $\pm$ 0,10c
Grupo G3	6,6 $\pm$ 0,05c	6,6 $\pm$ 0,15 b
Grupo G4	6,4 $\pm$ 0,07c	6,2 $\pm$ 0,22b
Grupo G5	5,8 $\pm$ 0,05b	5,0 $\pm$ 0,11 a
Valor de P	<0,001*	<0,001*

* $P > 0,05$ através do teste de Levene. Os valores de P são aqueles obtidos através da análise de variâncias univariada (one-way ANOVA). As médias foram comparadas usando o teste de Tukey pois uma igualdade de variâncias pôde ser assumida Para cada parâmetro analisado, dentro de uma mesma coluna valores médios com letras diferentes diferem significativamente ($P < 0,05$).

Os valores de umidade foram determinados para o conjunto total da amostra, pelo rendimento de liofilização, por esta razão não há um tratamento estatístico realizado para este parâmetro, uma vez que o $n = 1$. Obtiveram-se valores para os respectivos grupos, do mais verde ao mais maduro de 94,4%, 78,4%, 71,2%, 63,9% e 49,6%. Nota-se que a umidade na casca diminui gradualmente com o avanço da maturação do fruto. Esta tendência está associada a dessecação, ou seja, perda de água da casca para a polpa (Schotsmans e Fischer, 2011).

Relativamente ao teor em cinzas, observa-se um aumento não gradual na percentagem com a maturação do maracujá. Há diferenças significativas entre o grupo de maturação G1 e os demais ($P < 0,001$), e não foram determinadas diferenças estatísticas entre os conjunto G2 e G5 e o conjunto G3 e G4 conforme a Tabela 4.

A percentagem de proteína bruta diminuiu gradualmente com o avanço da maturação, havendo diferenças significativas entre todos os grupos ($P < 0,001$), exceto para o grupos G3 e G4 (6,6 e 6,2% respetivamente). Estes valores são mais altos dos que apresentados por Romero-Rodriguez *et al.* (1993) para maracujás oriundos da região da Galiza, podendo-se associar a diferença na composição com a variedade, clima e características de cultivo. O decréscimo os teores de proteína da casca ao longo da maturação estão associados as complexas modificações bioquímicas que ocorrem na parede celular, além de que as proteínas presentes na casca podem servir de um fonte de energia para os processos de respiração (Giovanonni, 2004; Kader e Yahia, 2011).

4.3. Composição centesimal das sementes

Assim como a casca, as sementes de maracujá usualmente são descartadas como sendo um resíduo agroindustrial, proveniente principalmente processo de extração do sumo. As crescentes pesquisas voltadas para o conhecimento da sua composição, levaram a cabo o potencial que a mesma possui de ser reutilizada em diferentes campos (Silva e Bottoli, 2014).

A avaliação da composição centesimal das sementes de maracujá-roxo foi feita através da determinação do teor em umidade, proteína bruta, gordura e cinzas. Na Tabela 5 estão apresentados os resultados obtidos para as amostras dentro dos cinco grupos de maturação.

Tabela 5. Valores percentuais em base seca de cinzas, proteína e gordura da semente de maracujá-roxo nos diferentes graus de maturação (média $\pm$ desvio padrão; n=3.).

Graus de maturação	Cinzas (%)	Proteína	Gordura
Grupo G1	1,09 $\pm$ 0,07a	7,62 $\pm$ 0,31a	9,87 $\pm$ 1,25a
Grupo G2	1,31 $\pm$ 0,08b	11,03 $\pm$ 0,56b	19,06 $\pm$ 0,10b
Grupo G3	1,64 $\pm$ 0,05c,d	8,09 $\pm$ 0,56a	19,91 $\pm$ 0,37b
Grupo G4	1,81 $\pm$ 0,11d	8,02 $\pm$ 0,35a	21,61 $\pm$ 0,21c
Grupo G5	1,57 $\pm$ 0,06c	8,07 $\pm$ 0,34a	22,58 $\pm$ 0,1c
Valor de P	<0,001*	<0,001*	<0,001*

* $P > 0,05$ através do teste de Levene. Os valores de P são aqueles obtidos através da análise de variâncias univariada (one-way ANOVA). As médias foram comparadas usando o teste de Tukey pois uma igualdade de variâncias pôde ser assumida; Para cada parâmetro analisado, dentro de uma mesma coluna valores médios com letras diferentes diferem significativamente ($P < 0,05$).

A umidade das amostras de semente, assim como as cascas, foram determinadas por rendimento de liofilização de todo o conjunto da amostra, não havendo portanto análise estatística para este parâmetro, uma vez que $n = 1$. Os valores determinados foram 42,3, 10,6, 11,1, 11,5 e 10,7% em base úmida para os grupos G1, G2, G3, G4 e G5 respectivamente, sendo este comportamento de fato o esperado, já que conforme a maturação, as sementes perdem água pela síntese de outros compostos. As cinzas representam a fração minoritária das sementes em estudo (Tabela 5). As amostras apresentaram tendência de aumento do teor em cinzas conforme o fruto amadurece, diferenças estatísticas para este parâmetro foram observadas entre o grupo G1 e G2 e com os demais, e entre os grupos G4 e G5 ($P < 0,001$). Os resultados estão de acordo com os obtidos por Alves (2013), onde para a mesma variedade encontram-se valores médios

entre 1,12 e 1,31%, bem como também estiveram de acordo com os valores referidos por Malacrida e Jorge (2012) para a variedade amarela (1,27%), entretanto não há referências quanto ao grau de maturação das sementes utilizadas nestes estudos.

Em relação ao teor de proteína, observou-se que o menor teor é o do grupo G1, no qual as sementes ainda estão verdes e em formação (7,62%). Houve também diferenças significativas ($P < 0,001$) entre o grupo G2 e os demais, sendo que este apresentou um valor superior de 11,03% enquanto os grupos G3, G4 e G5 apresentaram valores médios de 8,09, 8,02 e 8,07% respectivamente. Comparativamente aos trabalhos de Alves (2013) e Malacrida e Jorge (2012), os valores obtidos neste trabalho são relativamente menores, tanto para a variedade roxa (13,22%) quanto para a variedade amarela (12,23%). Diversos fatores podem afetar este parâmetro, podendo-se associar a diferença na percentagem de proteína bruta ao tipo de cultivo, bem como ao uso de adubos azotados, que aumentam o azoto no fruto e consequentemente o teor de proteína bruta.

A gordura corresponde a uma grande fração da composição centesimal das sementes. Neste estudo, o teor em gordura aumenta proporcionalmente com a maturação do maracujá, atingindo o valor máximo no grau G5 de 22,58% (Tabela 5). O grupo G1 apresenta o menor índice, diferindo significativamente dos demais, com valor de 9,87% ($P < 0,001$). O conjunto dos grupos G2 e G3 e o conjunto G4 e G5 não apresentaram diferenças entre si. Os resultados obtidos vão ao encontro aos resultados encontrados em outros estudos para a mesma variedade de maracujá, que estão entre 21,57 e 28,12% (Alves, 2013; Jorge *et al.*, 2009 respectivamente). A variedade amarela apresentou um valor superior de gordura comparada aos apresentados neste trabalho, em torno de 30,39% (Malacrida e Jorge 2012). É fato a existência de uma relação inversa com a umidade da polpa, conforme esta diminui com a maturação, aumenta a gordura da semente, bem como o de proteína. Essas duas substâncias são acumuladas nas sementes durante o seu desenvolvimento. Logo após a fertilização, o acúmulo de matéria seca se processa de maneira lenta, pois as divisões celulares predominam. Em seguida, verifica-se um aumento contínuo e rápido na matéria seca acompanhado por um aumento na germinação e no vigor, até atingir o máximo. Desse modo, pode-se afirmar que, em geral, a semente deve atingir a sua máxima qualidade fisiológica quando o conteúdo de matéria seca for máximo (Peske *et al.*, 2003).

4.4. Caracterização da polpa

4.4.1. Cor

A Tabela 6 apresenta os valores determinados para a polpa nos diferentes grupos de maturação, caracterizados pelos parâmetros de L*, a* e b*.

Tabela 6. Colorimetria da polpa nos diferentes graus de maturação (média $\pm$ desvio padrão; n = 3).

Graus de maturação	a*	b*	L*
Grupo G1	-3,54 $\pm$ 0,34a	23,59 $\pm$ 1,76a	53,02 $\pm$ 0,69c
Grupo G2	4,56 $\pm$ 0,39c	35,59 $\pm$ 0,99b	49,51 $\pm$ 0,04b
Grupo G3	3,96 $\pm$ 0,84 c	37,67 $\pm$ 2,07b	52,87 $\pm$ 0,52c
Grupo G4	4,27 $\pm$ 1,1c	44,61 $\pm$ 0,46c	53,79 $\pm$ 0,76 c
Grupo G5	-1,78 $\pm$ 0,05b	25,92 $\pm$ 0,48 a	48,57 $\pm$ 0,17a
Valor de P	<0,001**	<0,001**	<0,001**

** $P < 0,05$ através do teste de Levene. Os valores de P são aqueles obtidos através da análise de variâncias univariada (one-way ANOVA) com correção de Welch. As médias foram comparadas usando o teste de Dunnett T3 pois uma igualdade de variâncias não pôde ser assumida; Para cada parâmetro analisado, dentro de uma mesma coluna valores médios com letras diferentes diferem significativamente ($P < 0,05$).

No parâmetro a*, a cor verde diminui com o amadurecimento até o grupo G4 e depois volta a subir quando o fruto já está com maturação avançada, conforme mostra a Tabela 6. Assim também é o perfil do parâmetro b*, onde a cor amarela aumenta do grupo G1 ao G4, até diminuir significativamente no grupo G5 ($P < 0,001$). Relativamente à luminosidade, esta esteve entre valores de 48,57 e 53,79, sendo que os grupos G2 e G5 diferiram significativamente entre si e com os demais ($P < 0,001$). A cor da polpa está intimamente relacionada com o teor de carotenoides presentes, que são sintetizados durante o processo de maturação, nomeadamente licopenos e β -caroteno, responsáveis pela formação de pigmentos que variam entre o amarelo e o vermelho(Silva *et al.*, 2014) O teor de carotenoides presente na polpa depende de muitas variáveis, incluindo o processo de cultivo (biológico ou convencional), a exposição a luz, temperatura e grau de maturação da fruta (Vianna-Silva *et al.*, 2008; Pertuzatti *et al.*, 2015).

4.4.2. Composição química

A umidade da polpa, representada pelo rendimento de liofilização não apresentou diferenças entre as amostras ($P = 0,099$), ou seja, o teor de umidade não variou ao longo da maturação sendo os valores obtidos para os grupo G1 a G5 respetivamente 63,2, 59,5,

61,2, 60,8 e 62,1. No que se refere às análises realizadas na polpa, a Tabela 7 apresenta os resultados obtidos.

Tabela 7. Teor de cinzas e proteína (% em base seca), pH, teor de sólidos solúveis totais (°Brix) e magnésio e potássio (ppm) da polpa nos diferentes graus de maturação (média± desvio padrão, n=3).

Graus de maturação	Cinzas	Proteína	Brix°	Magnésio	Potássio	pH
Grupo G1	4,1±0,02d	7,1 ± 0,11d	9,1±0,26a	65,8±0,4c	399,2±39,92d	2,9±0,1abc
Grupo G2	2,5±0,01c	3,9±0,03b,c	13,8±0,06b	44,9±1,52b	157,0±2,7c	2,8±0,01a
Grupo G3	2,3±0,02a	3,6±0,04a	15,3±0,06d	39,0±8,41b	131,03 ± 0,5b	2,9±0,03b
Grupo G4	2,3±0,01b	4,0±0,01c	14,6±0,15c	27,17±0,06a	126,1±17,7a,b,c	3±0,01b
Grupo G5	2,2±0,02a	3,8±0,03b	14,6 ± 0,1c	34,77±1,09a,b	111,4 ± 0,17a	3,1±0,02c
Valor de P	<0,001*	<0,001*	<0,001*	<0,001*	<0,001**	<0,001**

* $P > 0,05$ através do teste de Levene. Os valores de P são aqueles obtidos através da análise de variâncias univariada (one-way ANOVA). As médias foram comparadas usando o teste de Tukey pois uma igualdade de variâncias pôde ser assumida; ** $P < 0,05$ através do teste de Levene. Os valores de P são aqueles obtidos através da análise de variâncias univariada (one-way ANOVA) com correção de Welch. As médias foram comparadas usando o teste de Dunnett T3 pois uma igualdade de variâncias não pôde ser assumida; Para cada parâmetro analisado, dentro de uma mesma coluna valores médios com letras diferentes diferem significativamente ($P < 0,05$).

Quanto ao teor em cinzas, o mesmo diminuiu com a maturação, uma diferença significativa foi observada entre o grupo G1 (4,09%) e G2 (2,5%) ($P < 0,001$). Nos grupos seguintes, as cinzas ficaram entre 2,2 e 2,3%, com o grupo G4 sendo significativamente diferente do conjunto G3 e G5 ($P < 0,001$).

Entre as três matrizes estudadas, o sumo foi o que apresentou o menor percentual de proteína bruta. A semente verde apresentou um teor de 7,1% sendo este significativamente diferente para os outros graus de maturação ($P < 0,001$). Nos grupos subsequentes, o 4 obteve o maior teor de proteína (4%), seguido dos grupos G2 e G5 (3,94 e 3,85% respectivamente) que não diferiram entre si. Durante o processo de maturação, existe um período em que o conteúdo de enzimas específicas e síntese de proteínas é maior, e no final da maturação e início da senescência essa síntese decresce (Chitarra e Chitarra, 2005). Este comportamento é observado neste estudo, bem como no realizado por Flórez *et al.* (2012) para esta mesma espécie.

O teor de sólidos solúveis constitui uma forma objetiva e direta de medir a doçura de um fruto, sendo que seu conteúdo engloba diferentes compostos como açúcares, vitaminas, alguns ácidos, aminoácidos e pequenas quantidades de pectina. O aumento do seu teor conforme o fruto amadurece está diretamente relacionado com a degradação de polissacarídeos que ocorre nesse mesmo período (Chitarra e Chitarra, 2005). Desta forma, para as amostras neste estudo, observa-se que há um aumento conforme a maturação do

fruto, sendo o grupo G3 o que possui o maior teor médio de SST (15,26 °Brix). Vianna-Silva *et al.* (2008) avaliaram a qualidade do sumo de maracujá-amarelo em diferentes graus de maturação, reportando um aumento do valor de SST conforme o fruto amadurece, assim como Jiménez *et al.* (2011) verificaram que o teor em sólidos solúveis totais aumenta à medida que avança a maturação para a variedade roxa.

O valor de pH aumentou conforme o fruto amadureceu, passando de 2,87 no grupo de maturação mais verde para 3,09 no mais maduro. Estes valores estão de encontro com os apresentados por Flórez *et al.* (2012) para o maracujá-roxo oriundo da cidade de Chía-Colômbia onde também se observou um aumento do pH com a maturação e foram relativamente maiores quando comparados aos obtidos por Jiménez *et al.* (2011). Neste estudo o valor máximo de pH para o maracujá maduro foi de 2,77 para esta mesma espécie, mostrando que as pequenas variações de pH podem ser dependentes da região de cultivo e variedade. Comparativamente à variedade amarela, o maracujá-roxo apresenta um pH maior, já que nos estudos de Coelho *et al.* (2009) e Vianna-Silva *et al.* (2008) os valores máximos médios de pH para o maior grau de maturação foram respetivamente de 2,9 e 2,7.

Desde o início da frutificação, há uma grande necessidade de energia no maracujazeiro e uma forte drenagem de nutrientes das folhas para os frutos em desenvolvimento. O potássio e magnésio são elementos minerais muito importantes presentes no maracujá e são exportados da planta para o fruto. A quantidade destes minerais no fruto está diretamente relacionada com a qualidade nutricional do solo, já que quanto menor o teor de minerais no solo, menor a absorção pela planta e consequentemente, menor produção de frutos e exportação de nutrientes (Crisóstomo e Naumov, 2009). Neste contexto, o conteúdo destes minerais diminuiu progressivamente com a maturação. A polpa dos maracujás completamente verdes apresentou os maiores valores de magnésio (65,8 ppm) sendo este significativamente diferentes dos frutos com maturação mais avançada ($P < 0,001$). O grupo G4 apresentou menor teor de magnésio (27,2 ppm). Relativamente ao potássio, as polpas mais verdes apresentaram valores significativamente maiores aos demais ($P < 0,001$), notando-se que os valores caem conforme a maturação, porém estes não se diferem estatisticamente com a polpa mais madura sendo o que possui menor teor de potássio (111,4 ppm).

A acidez titulável de um fruto é dada pelos ácidos orgânicos, cujo teor tende a diminuir durante o processo de amadurecimento devido à oxidação dos mesmos em decorrência das reações que ocorrem com a respiração. Estas reações também são

fundamentais para a síntese de outros compostos, tais como os fenólicos e os volatéis. Além disso, a acidez é um importante parâmetro utilizado pela indústria, já que quanto maior a acidez da polpa, mais fácil é a sua conservação e menor será a necessidade da adição de antioxidantes (Chitarra e Chitarra, 2005; Vianna-Silva *et al.*, 2008). A Figura 9 apresenta os valores de acidez da polpa nos diferentes graus de maturação.

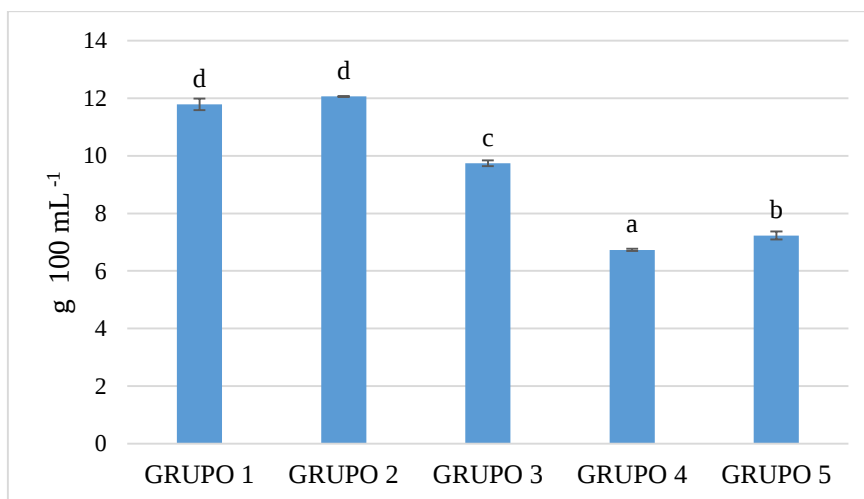


Figura 9. Valores obtidos de acidez titulável expressa em ácido cítrico para os diferentes graus de maturação (média $\pm$ desvio padrão; $n = 3$). Os valores médios com letras minúsculas diferentes diferem significativamente ($P < 0,05$).

A acidez titulável diminuiu conforme a maturação. Os grupos apresentaram diferenças significativas entre si ($P < 0,001$), exceto os grupos G1 e G2 ($P = 0,09$), com valor mínimo obtido de acidez titulável de $6,73 \text{ g } 100 \text{ mL}^{-1}$ e valor máximo de $12,06 \text{ g } 100 \text{ mL}^{-1}$.

Conforme destacado anteriormente, a maturação dos frutos envolve uma série de mudanças bioquímicas, fisiológicas e estruturais que se refletem nas propriedades organolépticas do fruto, como seu sabor, aroma e textura. A hidrólise de amidos armazenados durante o crescimento em monossacarídeos e a oxidação e conversão de ácidos orgânicos em fonte de energia respiratória são algumas dessas importantes mudanças que ocorrem no maracujá, pois afeta diretamente o sabor do fruto (Chitarra e Chitarra, 2005; Prasanna *et al.*, 2007).

A cromatografia líquida de alta eficiência é uma importante técnica de separação onde uma mistura de compostos pode ser facilmente e rapidamente separada. Baseado na

literatura, diferentes ácidos e açúcares foram seleccionados para determinação de suas concentrações na polpa de maracujá-roxo. Após os ensaios de todos os ácidos e açúcares, alguns ácidos reportados na literatura presentes no maracujá-roxo não foram identificados (Zeraik *et.*,2010), isso pode dever-se a factores genéticos ou eventualmente, agronômicos. Os cromatogramas obtidos apontaram três ácidos (cítrico, málico e ascórbico; Figura 10) e três açúcares (frutose, glucose e sacarose; Figura 11) como sendo os principais e em concentrações determináveis na polpa.

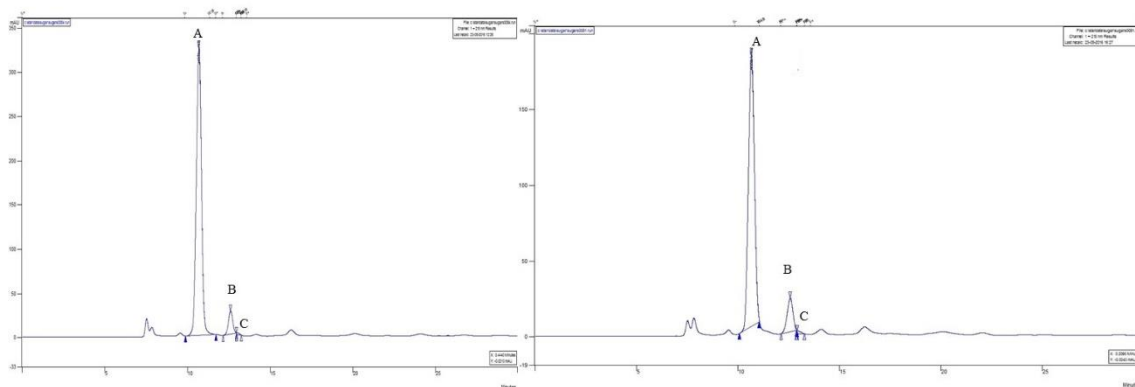


Figura 10. Exemplo de cromatogramas obtidos para a polpa dos grupos G1 e G5 da esquerda para a direita, com os referidos picos de ácido cítrico (A), ácido málico (B) e ácido ascórbico (C).

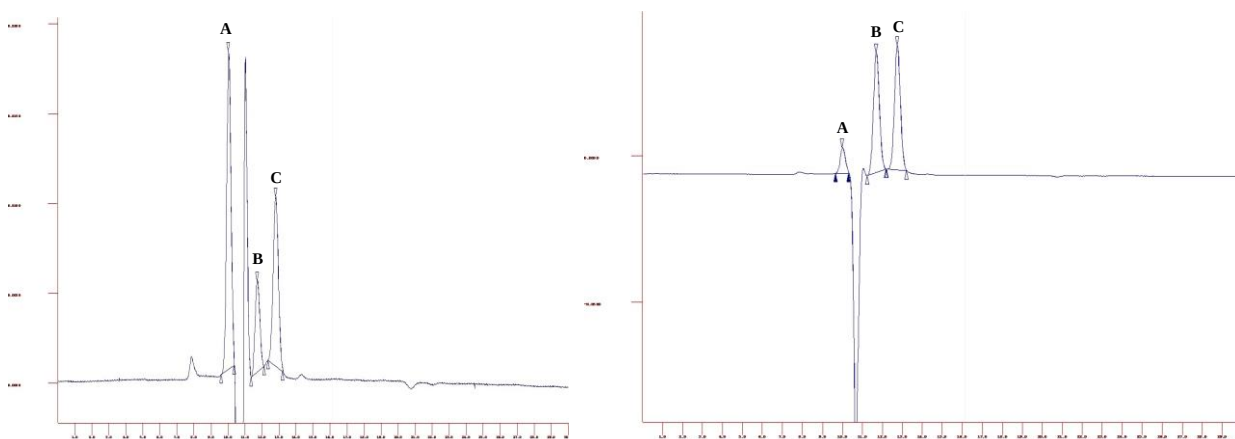


Figura 11. Exemplos dos cromatogramas obtidos para a polpa referente aos açúcares, do grupos G1 e G5 da esquerda para a direita, com os referidos picos de sacarose (A), glucose (B) e frutose (C).

Relativamente aos açúcares, a frutose e a glucose são originadas da degradação da sacarose e de polissacarídeos de reserva como o amido. O aumento da doçura ao longo da maturação está relacionada com a formação e acréscimo contínuo destes compostos (Prasanna *et al*, 2007). A Figura 12 apresenta as concentrações determinadas para cada grau de maturação, relativamente aos três açúcares maioritários.

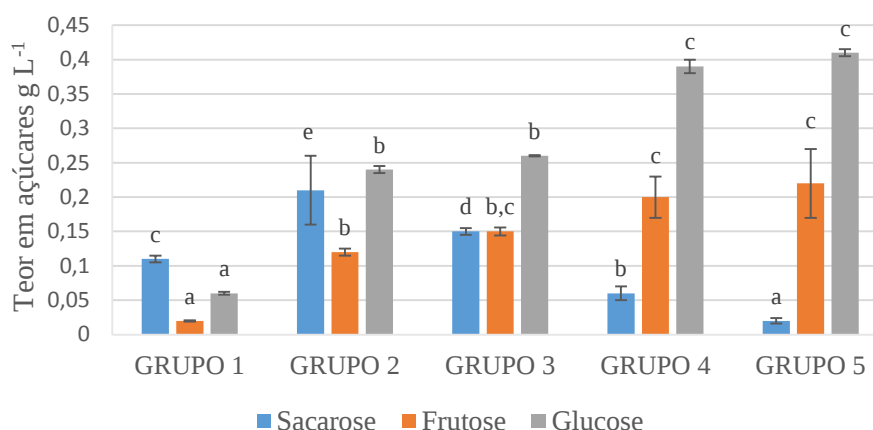


Figura 12. Valores determinados para sacarose, frutose e glucose na polpa nos diferentes graus de maturação (média $\pm$ desvio padrão, $n=2$). Para cada parâmetro, valores médios com letras diferentes diferem significativamente ($P < 0,05$).

É observado que há diferenças significativas ($P < 0,001$) entre todos os grupos quanto ao seu conteúdo em sacarose, que decresce gradualmente ao longo da maturação. Pode-se atribuir isto à ação da enzima invertase, que quebra este dissacarídeo dando origem a moléculas menores, gerando portanto frutose e glucose. No que se refere à glucose esta representa o açúcar com maior concentração na polpa, aumentando conforme a maturação. Diferenças significativas foram encontradas entre os conjuntos dos grupos G2 e G3, o conjunto dos grupos G4 e G5 e o grupo G1 com os demais ($P < 0,001$). A frutose é o segundo açúcar maioritário, seguindo o mesmo comportamento da glucose (Figura 12). Em paralelo com a quebra da glucose, a hidrólise do amido também pode justificar as concentrações obtidas, já que a glucose é o principal produto desta reação. Flórez *et al.* (2012) obtiveram o mesmo perfil para maracujá-roxo oriundos da Colômbia, ou seja, o aumento dos teores de glucose e frutose foram acompanhados do decréscimo do teor de sacarose.

A análise dos ácidos orgânicos possibilitou determinar as concentrações dos ácidos málico, cítrico e ascórbico nos diferentes grupos, bem como a determinação do comportamento destes ácidos conforme o amadurecimento do fruto, conforme apresentado na Figura 13.

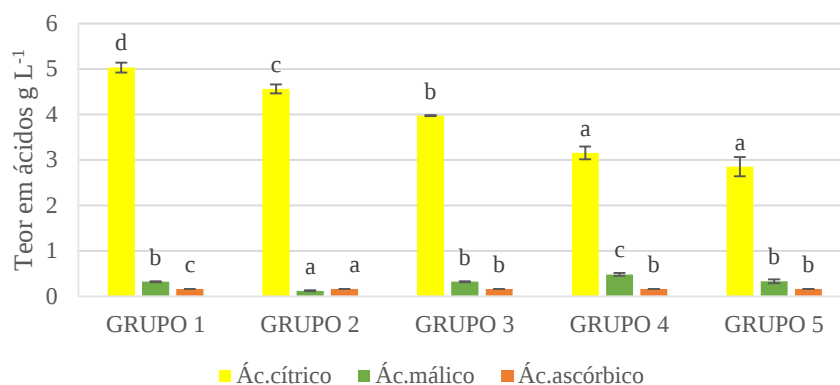


Figura 13. Valores determinados para ácidos orgânicos na polpa nos diferentes grupos de maturação (média $\pm$ desvio padrão, $n=2$). Para cada parâmetro, valores médios com letras diferentes diferem significativamente ($P < 0,05$).

A Figura 13 mostra que há uma tendência de acúmulo de ácidos na polpa mais verde, seguido por uma queda conforme a maturação avança. O ácido cítrico aparece como sendo o maioritário em todos os graus de maturação. O teor deste ácido decresce conforme o fruto amadurece, diferenças estatísticas significativas são encontradas entre os todos os grupos ($P < 0,001$), exceto entre os grupos G4 e G5 onde os valores obtidos são respectivamente 3,15 e 2,85 g L⁻¹. O ácido málico apresentou ligeiramente uma tendência de aumento conforme a maturação, sendo seu maior teor no grupo G4. Este comportamento assemelha-se muito ao reportado por Flórez *et al.* (2012) para esta mesma espécie. Relativamente ao ácido ascórbico, o mesmo não apresenta variação apreciável na sua concentração ao longo da maturação do fruto, tendo valores entre 0,158 e 0,163 g L⁻¹.

4.5. Atividade antioxidante

4.5.1. Rendimento de extração

A determinação do rendimento de extração define a quantidade de extrato obtido, para então poder-se avaliar o seu potencial antioxidante. Este parâmetro assume especial importância quando nos referimos aos diferentes setores industriais onde os extratos podem ser explorados, uma vez que se procuram matrizes com elevado potencial bioativo, mas também com quantidades significativas dos princípios ativos responsáveis por tal potencial. Na Figura 14 estão representados os rendimentos de extração das diferentes partes do maracujá estudadas.

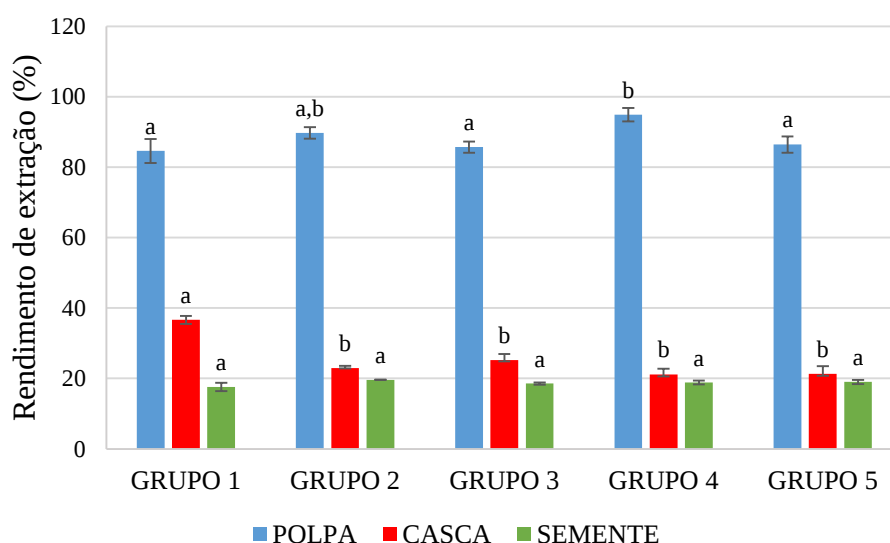


Figura 14. Rendimentos de extração obtidos a partir de extrações metanólicas aplicadas às diferentes partes do fruto estudadas ($n = 3$; média $\pm$ desvio padrão). Dentro de cada matriz, valores médios com letras diferentes diferem significativamente ($P < 0,05$).

No que refere à polpa, o rendimento de extração do grupo G4 foi significativamente maior do que nos grupos G1, G3 e G5 e não houve diferenças no rendimento destes grupos, sendo que o rendimento variou entre 84,6% a 94,9% (Figura 14). Para a casca, somente o grupo G1 variou significativamente, sendo estatisticamente superior ($P < 0,001$) aos demais graus de maturação, estando os valores entre 21,3% e 36,7% (Figura 14). O rendimento das sementes não apresentou diferenças significativas e os valores obtidos foram superiores aos apresentados no trabalho de Alves (2013), no qual o rendimento de extração das sementes de maracujá-roxo utilizando o metanol como solvente foi de 4,7% e neste trabalho obteve-se valores entre 17,6% e 19,6%. O teor em gordura das sementes pode ser um dos aspectos que explicam as diferenças encontradas. As sementes utilizadas neste trabalho poderão ter um maior teor de gordura, facilmente

removida pelo metanol. Além disso, diversos outros fatores poderão contribuir para a diferença encontrada entre os valores obtidos. Entre esses fatores encontram-se a variedade do fruto (Martínez *et al.*, 2012), a origem geográfica dos frutos (Vasco *et al.*, 2008), que aliada às condições edafo-climáticas e sistema de cultivo moldam a composição e teor de compostos bioativos no maracujá (Macoris *et al.*, 2012). Outro aspecto importante é o grau de maturação, e como o presente trabalho tem vindo a demonstrar, o grau de maturação também influencia significativamente a composição do fruto, sendo que no trabalho de Alves (2013) tal informação não é mencionada.

4.5.2. Atividade Antiradicalar

Os efeitos benéficos do consumo de frutos estão muito relacionados com os seus altos teores de micronutrientes com propriedades antioxidantes incluindo por exemplo a vitamina C, carotenóides, minerais e polifenóis (Septembre-Malaterre *et al.*, 2016).

Diversos métodos foram desenvolvidos para a análise dessas propriedades, dentre estes, métodos colorimétricos para avaliar a capacidade antiradicalar, como por exemplo ABTS^{•+} e DPPH e capacidade redutora, nomeadamente método do poder redutor. O catião radical 2,2'-azobis-(3-etilbenzotiazolina-6-sulfonato) (ABTS^{•+}) é gerado pela oxidação de ABTS com o persulfato de potássio e é reduzido na presença de compostos doadores de hidrogénio, sendo a capacidade antioxidante determinada pela inibição dos radicais de ABTS (Re *et al.*, 1998).

A atividade sequestradora pelo 2,2-difenil-1-picrilhidrazilo (DPPH) é uma metodologia que permite a determinação do valor da concentração eficiente (CE₅₀), definida como a concentração necessária de extrato para atingir 50% de inibição dos radicais livres de DPPH. Um ensaio de DPPH baseia-se na medida da capacidade antioxidante de uma determinada substância em sequestrar o radical DPPH, reduzindo-o a hidrazina. Quando uma determinada substância que age como doador de átomos de hidrogénio é adicionada a uma solução de DPPH, a hidrazina é obtida com mudança gradual da coloração púrpura para amarelo pálido (Alves *et al.*, 2010; Oliveira *et al.*, 2009).

Neste contexto, a figura 15 apresenta os valores obtidos para os métodos testados na atividade antioxidante, nomeadamente atividade antiradicalar das matrizes de maracujá ao longo da maturação do fruto.

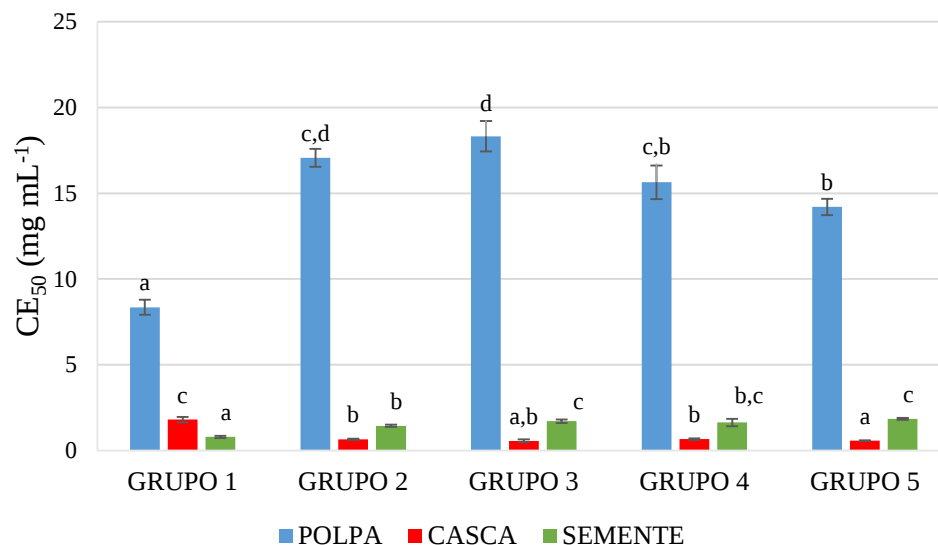
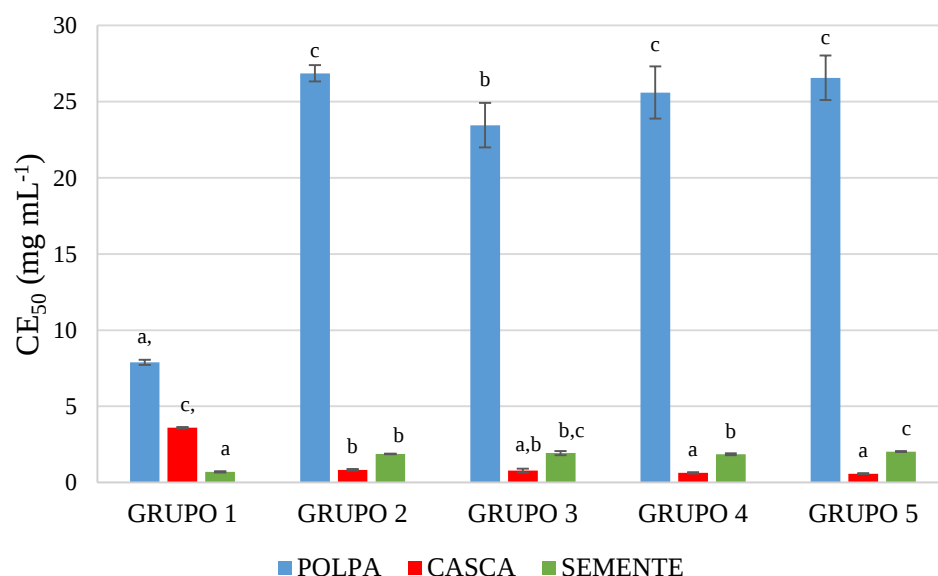
A**B**

Figura 15. Valores obtidos das análises da atividade antiradicalar DPPH e ABTS•⁺ (15A e 15 B respectivamente) dos extratos de polpa, casca, e semente (média ± desvio padrão, n=3). Letras minúsculas diferentes dentro de uma mesma matriz nas diferentes colunas, diferem significativamente ($P < 0,05$). CE₅₀: concentração efectiva na qual 50% dos radicais de DPPH e ABTS•⁺ são inibidos.

A atividade antioxidante é inversamente proporcional ao CE₅₀ obtido, ou seja, quanto menor o valor de CE₅₀, maior a capacidade antioxidante daquela amostra. Assim, observa-se pela Figura 15A que foi possível diferenciar a capacidade de inibir os radicais

de DPPH entre os grupos em uma mesma matriz e num mesmo grupo as três matrizes diferentes.

A polpa foi a matriz que apresentou uma menor atividade antioxidante, sendo que entre os graus de maturação, o grupo G1 que representa o grupo de frutos completamente verdes apresentou uma diferença significativa comparativamente com os restantes grupos ($P < 0,001$), sendo seu valor de CE_{50} $8,3 \text{ mg mL}^{-1}$ (Figura 15A).

O grupo de maturação G3 apresentou a menor atividade antioxidante com um valor de CE_{50} de $18,3 \text{ mg mL}^{-1}$. Os valores vão de encontro com os obtidos por Alves (2013), e em comparação com a espécie *Passiflora ligularis* Juss., estudada por Saravanan e Parimelazhagan (2014). O maracujá-roxo possuiu uma atividade antioxidante muito menor, uma vez que comparado com outras espécies, os valores de CE_{50} para a polpa estão na ordem $0,024 \text{ mg mL}^{-1}$. O mesmo ocorre com a polpa de maracujá-amarelo, comparativamente ao estudo de Moraes *et al.* (2015), no qual relataram valores de CE_{50} $0,87 \text{ mg mL}^{-1}$. De acordo com os resultados obtidos é possível verificar que o fator espécie é preponderante na capacidade antioxidante da polpa de maracujá.

Quanto à casca, a matriz apresentou valores de CE_{50} bem próximos entres os grupos com maturação mais avançada, havendo diferenças significativas somente entre o grupo G1 ($CE_{50} = 1,8 \text{ mg mL}^{-1}$) e os demais, nos quais os valores de CE_{50} estiveram entre $0,56$ e $0,66 \text{ mg mL}^{-1}$ (Figura 15A). É possível comparar os valores médios de CE_{50} obtidos com o de Zeraik *et al.*, (2012) que apresentou para cascas saudáveis de maracujá-amarelo um valor CE_{50} de $25,9 \text{ mg mL}^{-1}$ muito superiores aos deste estudo demonstrando que possivelmente as cascas da variedade roxa possuam mais compostos com efeito antiradicalar.

Relativamente à semente, a capacidade de inibição diminuiu com a maturação, o grupo G1 apresentou maior capacidade de inibição, com valores médios de CE_{50} de $0,8 \text{ mg mL}^{-1}$ diferenciando-se significativamente dos demais graus de maturação ($P < 0,001$). Os grupos G2 e G4 não se diferenciaram significativamente entre si ($P = 0,4$) e o grupo G5 apresentou menor atividade antioxidante ($CE_{50} = 1,8 \text{ mg mL}^{-1}$), tendo diferenças significativas apenas para os grupos G1 e G2 ($P < 0,001$). A capacidade de inibição das amostras deste trabalho é inferior à obtida pelos trabalhos de Alves (2013), que obteve valores médios de CE_{50} para sementes de maracujá-roxo de $0,4 \text{ mg mL}^{-1}$ e comparativamente a sementes de maracujá-amarelo no trabalho de Jorge *et al.* (2009), com valores médios de $0,113 \text{ mg mL}^{-1}$ e de Moraes *et al.* (2015) que apresentou CE_{50} de $0,049 \text{ mg mL}^{-1}$. É cabível ressaltar que não se conhece o grau de maturação e variedade

das espécies nestes estudos, e que o conteúdo de compostos com poder antiradicalar varia conforme as condições de plantio, colheita e armazenamento do fruto, além disso, o alto teor de gordura na semente pode influenciar a composição dos extratos, contudo, os valores encontrados representam um bom potencial antioxidante das sementes.

A Figura 15B reporta os valores médios de CE_{50} para o método ABTS^{•+}. Relativamente à polpa, foi observado o mesmo padrão obtido no DPPH, dessa forma, a atividade antioxidante diminui com a maturação do fruto. O grupo G1 apresentou diferenças significativas para os demais ($P < 0,001$), com valor de CE_{50} de $7,9 \text{ mg mL}^{-1}$, e os grupos 2, 3 e 5 não diferiram significativamente entre si ($P = 0,939$).

A casca representa a matriz com maior capacidade antioxidante para o método antiradicalar de ABTS^{•+} (Figura 15B). Observa-se que a capacidade de inibição aumenta gradualmente com a maturação, assim o grupo G5 com valor de CE_{50} de $0,6 \text{ mg mL}^{-1}$ representa o grau de maturação com maior capacidade bloqueadora de radicais ABTS^{•+}.

As sementes verdes (grupo G1) assim como no método DPPH apresentaram o menor valor médio de CE_{50} ($0,7 \text{ mg mL}^{-1}$), diferenciando significativamente dos demais grupos ($P < 0,001$) que tiveram valores de CE_{50} entre $1,85$ e $2,03 \text{ mg mL}^{-1}$.

4.5.3. Poder redutor

O poder redutor baseia-se no princípio da reação de doação direta de elétrons na redução de ferricianeto ($[\text{Fe}(\text{CN})_6]_3$) em ferrocianeto ($[\text{Fe}(\text{CN})_6]_4$), que resulta na formação de um complexo com coloração azul ou verde intensa, sendo que esta mudança de cor está diretamente relacionada com a presença de redutores, bem como a sua concentração nos extratos. Dessa forma, associa-se a concentração de Fe^{2+} com a absorbância através da leitura a 700 nm , sendo que uma maior absorbância indica maior poder redutor da amostra.

Assim como nos métodos antiradicalares, a polpa apresentou baixa atividade antioxidante comparativamente com as cascas e as sementes. O grupo G1 com $CE_{50} = 8,7 \text{ mg mL}^{-1}$ diferiu significativamente dos demais grupos de maturação ($P < 0,001$). A menor capacidade redutora foi atribuída ao grupo de maturação G2 ($CE_{50} = 21,78 \text{ mg mL}^{-1}$). Os grupos G3, G4 e G5 não apresentaram diferenças significativas entre si ($P = 0,974$), com valores de CE_{50} de $19,9$, $17,8$ e $18,3 \text{ mg mL}^{-1}$ respetivamente.

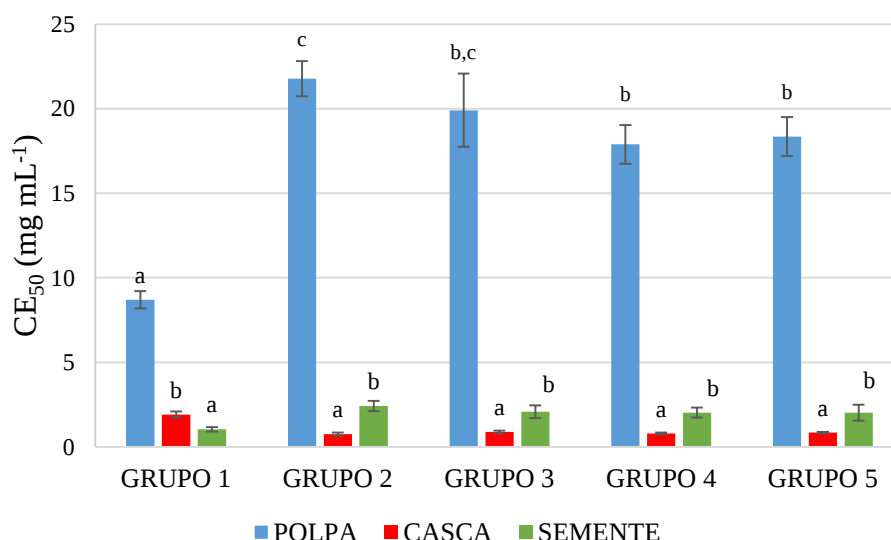


Figura 16. Valores obtidos das análises da capacidade redutora pelo método poder redutor dos extratos de polpa, casca, e semente (média $\pm$ desvio padrão, $n=3$). Letras minúsculas diferentes dentro de uma mesma matriz nas diferentes colunas, diferem significativamente ($P < 0,05$). CE_{50} : concentração efectiva na qual se obtém uma absorvância igual a 0,5 a 700 nm.

Quanto à casca, a capacidade redutora aumentou com a maturação, porém, não foi gradual como observado no método ABTS⁺⁺. O grupo G1 apresentou diferenças significativas comparativamente com os restantes grupos ($P < 0,001$), e estes não foram diferentes entre si. O grupo G2 apresentou menor valor de CE_{50} sendo este na ordem de $0,7 \text{ mg mL}^{-1}$, exatamente o mesmo valor obtido por Alves (2013), porém neste estudo não há informação do grau de maturação analisado.

O grupo G1 da semente, apresentou melhor poder redutor com valor de CE_{50} de $1,1 \text{ mg mL}^{-1}$, e assim como nos métodos anteriormente estudados, a atividade antioxidante diminuiu com a maturação do fruto, não havendo diferenças entre os grupos G2, G3, G4 e G5.

Em suma, a polpa foi a parte do fruto que apresentou menor atividade antioxidante em todos os métodos avaliados. A sua composição, nomeadamente a grande quantidade de açúcares pode ter influenciado os resultados obtidos. No entanto também é visível que imediatamente após o grupo G2 há um ligeiro aumento da capacidade antioxidante da polpa. Tal observação poderá estar relacionada com a presença de carotenoides, responsáveis pela cor alaranjada da polpa e que são sintetizados ao longo do processo de desenvolvimento do fruto. Entre os carotenoides presentes na polpa do maracujá está o

β -caroteno em quantidades apreciáveis (Silva et al., 2014; Wondracek et al., 2011), sendo este carotenoide um componente com elevado potencial antioxidante (Young et al., 2004). Tal resultado é também importante do ponto de vista do consumidor e para a indústria, uma vez que no momento de processar a polpa ou no caso de ser consumida *in natura*, a polpa apresenta melhorias na sua composição e propriedades para o consumidor.

No que respeita à semente, os resultados obtidos na atividade antioxidante demonstram uma ligeira diminuição da atividade antioxidante ao longo da maturação, parte dos resultados poderão estar relacionados com o teor em gordura das sementes e da composição desta, nomeadamente tocoferóis e esteróis.

Quanto à casca, um sub-produto do consumo e processamento do maracujá, os resultados demonstram que este sub-produto deve ser aproveitado em outros setores, como sendo o setor farmacêutico e medicinal, bem como o próprio setor alimentar. A casca apresenta valores muito interessantes do ponto de vista das suas potencialidades bioactivas. Um outro ponto positivo é que quanto mais maduro o fruto mais atividade antioxidante apresenta a casca. Esta observação deverá estar relacionado com as modificações bioquímicas que tomam lugar na casca durante a maturação, levando a uma acumulação de componentes bioactivos, nomeadamente antocianinas. Está provado que o teor destes pigmentos aumentam na casca do maracujá-roxo ao longo da maturação (Jiménez et al., 2011). Além do mais as antocianinas têm um elevado potencial antioxidante, o que terá contribuído para o ganho verificado na atividade das cascas ao longo da maturação (Ali et al., 2016).

Além disso, os resultados obtidos também são altamente influenciados pelo teor em outros compostos bioativos, como é de referir os compostos fenólicos e os diferentes grupos que os compõem. Na seguinte seção são apresentados os valores de fenóis totais, derivados do ácido hidroxicinâmico e flavonoides das diferentes partes do maracujá ao longo da maturação do fruto.

4.5.4. Diferentes grupos fenólicos

Os vegetais possuem dois tipos de metabolitos: primário e secundário. Enquanto os metabolitos primários respondem pela sobrevivência do vegetal, exercendo função activa nos processos de fotossíntese e respiração, os metabolitos secundários estão intimamente associados à estratégias de defesa da planta, já que estas quando expostas a ambientes desfavoráveis e condições adversas ao crescimento tais como falta de água, stress térmico, solo pouco nutritivo e deficiência de oxigênio fazem uso destes para se

adaptarem. Estes metabolitos ainda estão relacionados com a defesa da planta contra herbívoros e patogêneos e podem ser subdivididos em três grupos: os terpenos, compostos fenólicos e compostos contendo azoto (Chitarra e Chitarra 2005; Haminiuk *et al.*, 2012; Silva *et al.*, 2010). Dessa forma, as concentrações de compostos fenólicos em frutos é fortemente dependente da necessidade de síntese dos metabolitos secundários, bem como do grau de maturação do fruto, variedade, clima, composição do solo localização geográfica e condições de armazenagem pós-colheita (Haminiuk *et al.*, 2012; Prasanna *et al.*, 2007).

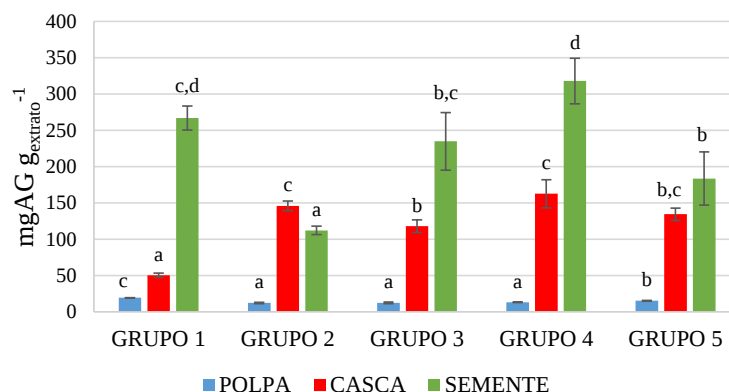
Compostos fenólicos são conhecidos por apresentarem diferentes atividades biológicas como por exemplo a sua atividade antioxidante por via da redução de iões metálicos e de inativação de radicais livres em cadeias lipídicas (Oliveira *et al.*, 2009).

Na Figura 17 são apresentados os teores de fenóis totais (17A) e alguns dos seus diferentes grupos, nomeadamente derivados do ácido hidroxicinâmico (DAH)(17B) e flavonóis(17C) para as três matrizes do maracujá-roxo ao longo da maturação.

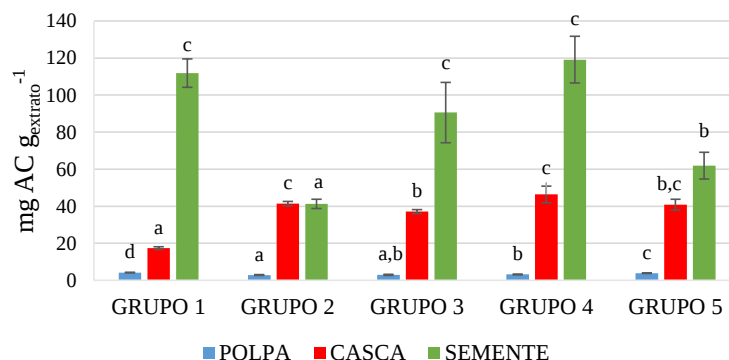
O teor de fenóis nos diferentes graus de maturação variaram significativamente de forma não gradual na polpa, casca e semente ($P < 0,001$).

No que se refere à polpa, os grupos G1 e G5 apresentaram valores médios mais altos de fenóis totais (19,5 e 15,4 mg AG g_{extrato}⁻¹ respetivamente) diferenciando-se significativamente entre si e dos restantes grupos ($P < 0,001$). Os valores médios para os grupos G2, G3 e G4 foram 12,3, 12,5 e 13,3 mg AG g_{extrato}⁻¹ sem diferenças entre eles. Comparativamente a outros trabalhos, Oliveira *et al.* (2009) reportou valores médios de 20 mg AG g_{extrato}⁻¹ para a polpa de maracujá da espécie *Passiflora alata*, sob extração metanólica. Em contrapartida, Pabón *et al.* (2011) relatou valores muito inferiores (1,3 mg AG g_{extrato}⁻¹) para extrato da parte edível do fruto. As diferenças nos valores podem ser atribuídas às variedades do fruto, às condições geográficas, ao grau de maturação, as condições de colheita e ao método de extração, especialmente quanto ao solvente utilizado, já que a polaridade do mesmo com a amostra afeta diretamente o rendimento de extração (Chirinos *et al.*, 2013).

A



B



C

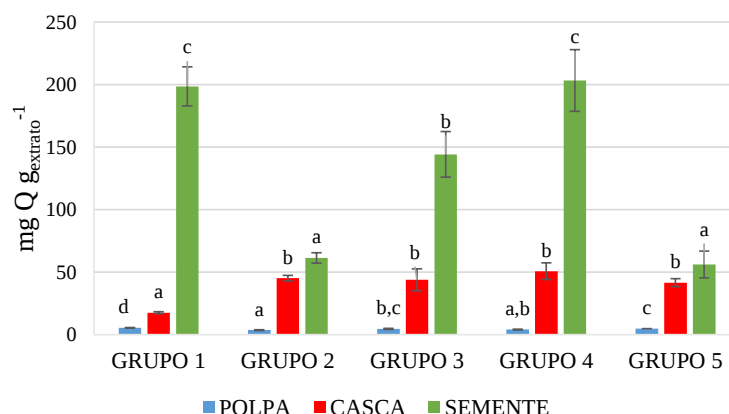


Figura 17. Valores obtidos das análises dos diferentes grupos fenólicos, fenóis totais (17A), derivados do ácido hidroxicinâmico (DAH) (17B), e flavonóis (17C) (média $\pm$ desvio padrão; $n=3$). Letras minúsculas diferentes dentro de uma mesma matriz nas diferentes colunas, diferem significativamente ($P < 0,05$).

A variação dos DAH está representada na Figura 17B e dos flavonóis na Figura 17C, seguindo-se a mesma tendência verificada nos fenóis totais. Desta forma, do fruto verde (G1) para o seguinte grau de maturação (G2) há uma diminuição do conteúdo de DAH e flavonóis, havendo diferenças significativas para os demais grupos para ambos os compostos ($P = 0,001$ e $P = 0,001$ respectivamente). Para os DAH, observaram-se

diferenças significativas entre os grupos G2, G4 e G5 nos quais os valores determinados ficaram entre 2,8 mg AC g_{extrato}⁻¹ (G2) e 3,8 mg AC g_{extrato}⁻¹ (G5). Nos mesmos grupos observaram-se diferenças significativas para os flavonóis com valores entre 3,5 mg Q g_{extrato}⁻¹ (G2) e 4,7 mg Q g_{extrato}⁻¹ (G5).

Relativamente à casca, o grupo G4 apresentou o maior conteúdo de fenóis totais (162,6 mg AG g_{extrato}⁻¹) seguidos dos grupos 2, 5 e 3 (145,9, 134,5 e 118,1 mg AG g_{extrato}⁻¹ respectivamente). O valor médio obtido do grupo G1 foi significativamente inferior aos demais ($P < 0,001$). O mesmo comportamento foi observado nas Figuras 17B e 17C. É notório um aumento significativo de DAH e flavonóis com a maturação (17,4 mg AC g_{extrato}⁻¹ em G1 e 41,5 mg AC g_{extrato}⁻¹ em G2), porém os teores caem quando a casca está com maturação avançada, representada pelo grupo G5. Os flavonóis tem papel importante no metabolismo secundário das plantas por agirem diretamente na defesa da planta contra stress, principalmente os danos causados por agentes patogênicos. Os teores encontrados nos grupos intermediários de maturação da casca, podem estar relacionados ao fato de que os flavonóis se acumulam muitas vezes no tecido externo dos frutos, devido a sua síntese ser estimulada pela luz solar (Haminiuk *et al.*, 2012).

As sementes obtiveram valores muito superiores de fenóis totais, DAH e flavonóis comparadas com a casca e polpa. Em outros frutos, as sementes também apresentaram teores de fenóis totais bem superiores às restantes partes edíveis dos mesmos (Soong e Barlow, 2004).

O grupo G4 apresentou o maior valor em fenóis totais (317,9 mg AG g_{extrato}⁻¹), sendo significativamente diferente dos grupos G2, G3 e G5 conforme mostra a Figura 16A ($P < 0,001$). O conteúdo em fenóis totais do grau de maturação G2 foi significativamente inferior aos demais ($P < 0,001$). Oliveira *et al.* (2016) determinou o conteúdo de fenóis totais na espécie *Passiflora edulis* sp através de diferentes métodos de extração, reportando para extração via etanol-água e via etanol absoluto valor médio de 142,4 e 75 mgAG g_{extrato}⁻¹ respectivamente. Estes resultados demonstram como o tipo de solvente e método de extração alteram a concentração de fenóis nos extratos. No presente trabalho realizou-se todas as extrações com metanol, devido ao mesmo apresentar maior rendimento para as diferentes matrizes de maracujá-roxo (Alves, 2013).

Relativamente aos valores de DAH e flavonóis, o comportamento dos extratos é o mesmo verificado nos fenóis totais. O grupo G4 apresenta as maiores concentrações destes compostos, seguido das sementes do fruto verde, conforme apresentado nas Figuras 17B e 17C. O grupo G2 possui valores significativamente inferiores aos demais

grupos ($P < 0,001$) exceto para o grupo G5 dos flavonóis, onde se observou uma redução brusca comparativamente ao grupo G4 (203,3 mg AC g_{extrato}⁻¹ no grupo G4 e 55,9 mg AC g_{extrato}⁻¹ no grupo G5). Observa-se na semente portanto uma tendência na qual há um maior teor de compostos fenólicos no fruto verde, que decresce no grau de maturação G2, aumenta com o desenvolvimento do fruto até decrescer novamente no final da maturação. As oscilações verificadas nas sementes estarão essencialmente relacionadas com dois principais aspetos, nomeadamente a necessidade do uso dos compostos fenólicos para o crescimento vegetativo dos frutos, bem como a ocorrência de situações que colocam a árvore sob stress levando a uma maior acumulação de metabolitos secundários nos frutos, nomeadamente compostos fenólicos, que ajudam à adaptação a tais condições (Gershenzon, 1984; Treuter, 2006)

É importante realçar que os extratos foram efetuados com a semente por inteiro, sem a extração do seu óleo. Dessa forma, pode-se presumir que nestes valores determinados de fenóis totais estejam embutidos quantidades de outros compostos presentes no óleo, nomeadamente tocoferóis e esteróis, já determinados em quantidades significativas em estudos realizados por Giuffré (2007) na espécie roxa e Malacrida e Jorge (2012) na espécie amarela, bem como sua atividade antioxidante foi investigada por Alves (2013) reportando percentagens de inibição consideráveis, entre 83,5 e 96,6% pelo método ABTS⁺.

As frutas contém misturas complexas de polifenóis que não são distribuídos uniformemente na casca, polpa e sementes (Haminiuk *et al.*, 2012). Os compostos fenólicos são os principais responsáveis pelas propriedades antioxidantes de frutas e vegetais (Balasundram *et al.*, 2006; Rice-Evans, 1997). No caso da polpa, casca e semente de maracujá-roxo, o teor em fenóis totais esteve extremamente correlacionado com a atividade antioxidante observada ao longo da maturação (Tabela 8).

Tabela 8. Correlações estabelecidas entre o teor em compostos fenólicos totais e os valores de CE₅₀ dos métodos antioxidantes testados na polpa, casca e semente de maracujá-roxo ao longo da maturação.

	Polpa	Casca	Semente
DPPH			
Equação	$y = -1,227x + 32,68$	$y = -0,010x + 2,129$	$y = -0,001x + 1,674$
R ²	0,915	0,745	0,028
P	***	***	n. s.
ABTS			
Equação	$y = -2,251x + 55,04$	$y = -0,026x + 4,483$	$y = -0,002x + 2,128$
R ²	0,724	0,817	0,093
P	***	***	n. s.
Poder redutor			
Equação	$y = -1,585x + 40,53$	$y = -0,010x + 2,288$	$y = -0,004x + 2,719$
R ²	0,868	0,838	0,239
P	***	***	**

n. s. – correlação não significativa ($P > 0,05$); * correlação significativa ($P < 0,05$); ** correlação muito significativa ($P < 0,01$); *** correlação extremamente significativa ($P < 0,001$).

De acordo com os dados apresentados na Tabela 8 é possível verificar que para os três métodos avaliados os fenóis totais são diretamente responsáveis pela atividade antioxidante verificada na polpa e casca. Estas correlações são negativas, o que implica que quanto maior for o teor de fenóis totais nestas amostras, menor será o valor de CE₅₀ obtido, o que implica uma maior atividade antioxidante. Neste caso, como com a maturação das diferentes partes que compõem o maracujá-roxo, caso haja uma perda de fenóis, haverá uma perda de atividade antioxidante, e ao revés, no caso de se verificar um aumento nestes metabolitos secundários, haverá um ganho de atividade antioxidante. Tal facto é bem patente no presente estudo, como se pode verificar nas Figuras 15A 16 e 17A. No entanto, nas sementes verificou-se que os compostos fenólicos estiveram correlacionados com a capacidade redutora mas não com a atividade antiradicalar (Tabela 8). Este aspeto poderá estar relacionado com o facto de os compostos fenólicos terem uma elevada capacidade redutora e outros compostos lipofílicos presentes principalmente no óleo da semente contribuírem mais para a atividade antiradicalar.

CAPÍTULO 5

Conclusões

5. Conclusões

No presente trabalho, foi possível observar algumas modificações físicas e químicas que ocorrem nas diferentes partes do maracujá-roxo ao longo da maturação do fruto.

Concluiu-se que ao longo da maturação dos frutos há um aumento do rendimento em polpa, ainda que o peso dos frutos se tenha mantido sem variações relevantes. Tanto ao nível da casca como da polpa, a maturação leva a modificações na cor, especialmente no parâmetro luminosidade (L^*).

A composição centesimal variou de acordo com a parte do fruto estudada, nomeadamente: i) ao nível do teor em proteína; ii) teor em cinza bruta; e iii) teor em gordura. Em termos de micronutrientes há uma grande diminuição nos teores dos dois principais minerais da polpa, o potássio e o magnésio, ao longo da maturação.

Como verificado em muitos outros frutos, na polpa do maracujá-roxo, em geral os teores de açúcares aumentam com a maturação, verificando-se em contrapartida uma diminuição nos teores em ácidos. Particularmente, no caso dos açúcares, a sacarose é o açúcar maioritário em graus de maturação iniciais, diminuindo progressivamente o seu teor. Com o avanço da maturação a frutose e a glucose vão aumentando, tornando-se nos açúcares maioritários da polpa. Os ácidos orgânicos identificados foram os ácidos cítrico, málico e ascórbico, sendo o primeiro predominante em todos os estádios de maturação, ainda que vá diminuindo gradualmente o seu teor.

Concluiu-se que o maior poder antioxidante encontra-se nas cascas, seguido das sementes e da polpa. Ao longo da maturação as cascas vão aumentando o seu potencial antioxidante, o que pode vir a atribuir um valor acrescido a este subproduto pouco explorado em vários sectores industriais. Concluiu-se também que os fenóis totais estão diretamente relacionados com os resultados obtidos na actividade redutora e antiradicalar verificada na polpa e casca, bem como com a capacidade redutora da semente.

Concluiu-se que as principais modificações ao nível das várias partes que compõem o maracujá-roxo verificam-se quando se dá a passagem de G1 para G2, sendo as modificações posteriores menos acentuadas.

Apesar do presente estudo ter revelado as fortes capacidades e potencialidades desta espécie, futuramente seria interessante aprofundar o conhecimento obtido com o isolamento de outros compostos bioativos presentes nas várias partes do maracujá-roxo,

como carotenóides, vitamina C e E e antocianinas. Outros estudos do forro agronómico seriam do maior interesse, nomeadamente o estudo dos sistemas de cultivo, a origem geográfica, a espécie e variedades, bem como as condições edafoclimáticas, aliadas ao processo de maturação, como poderiam afetar a qualidade, composição e propriedades dos frutos, de modo a obter-se maracujás de elevada qualidade que vão de encontro ao uso pretendido.

CAPÍTULO 6

Referências

6. Referências

- Ali, H.M., Almagribi, W., & Al-Rashidi, M.N. (2016). Antiradical and reductant activities of anthocyanidins and anthocyanins, structure-activity relationship and synthesis. *Food Chemistry*, 194: 1275-1282.
- Alves, A.I.P. (2013). *Contributo para a caracterização química e atividade antioxidante de diferentes partes de Passiflora edulis Sims edulis*. Dissertação (Mestrado em Qualidade e Segurança Alimentar). Instituto Politécnico de Bragança, Bragança, Portugal.
- AOAC (2000). Official Methods of Analysis of AOAC International, 17th ed.; Horwitz, W., Ed.; AOAC: Arlington, VA, Vol. II (1-3).
- Bhat, R., & Paliyath, G. (2015). Fruits of tropical climates: Dietary Importance and Health Benefits. In: Caballero, B., Finglas, P.M., & Toldrá, F. (Eds). *Encyclopedia of Food and Health*, Elsevier, Kidlington, pp.144-149. ISBN: 978-0-12-384947-2.
- Balasundram, N., Sundram, K., & Samman, S. (2006). Phenolic compounds in plants and agri-industrial by-products: Antioxidant activity, occurrence, and potential uses. *Food Chemistry*, 99: 191-203.
- Berker, K. I., Güçlü, K., Tor, I., & Apak, R. (2007). Comparative evaluation of Fe(III) reducing power-based antioxidant capacity assays in the presence of phenanthroline, batho phenanthroline, tripyridyltriazine (FRAP), and ferricyanide reagents. *Talanta*, 72: 1157–1165.
- Bianchi, M.L.P., & Antunes, L.M.G. (1999). Radicais livres e os principais antioxidantes da dieta. *Revista de Nutrição*, 12: 123-130.
- Boulanouar, B., Abdelaziz, G., Aazza, S., Gago, C., & Miguel, M. G. (2013). Antioxidant activities of eight Algerian plant extracts and two essential oils. *Industrial Crops and Products*, 46: 85–96.
- Cazarin, C.B.B., Silva, J.K., Colomeu, T.C., Zollner, R.L., & Junior, M.R.M. (2014). Capacidade antioxidante e composição química da casca de maracujá (*Passiflora edulis*). *Ciência Rural*, 44: 1699-1704.
- Chau, C. F., & Huang, Y. L. (2004). Characterization of passion fruit seed fibres - a potential fibre source. *Food Chemistry*, 85: 189-194.
- Chitarra, M.I.F., & Chitarra, A.B. (2005). Pós-colheita de frutos e hortaliças: fisiologia e manuseio. Lavras, Universidade Federal de Lavras, 785p.

- Chirinos, R., Pedresch, R., Rogez, H., Larondelle, Y & Campos, D. (2013). Phenolic compound contents and antioxidant activity in plants with nutritional and/or medicinal properties from the Peruvian Andean region. *Industrial Crops and Products*, 47: 145– 152.
- Cisneros-Zevallos, L. (2003). The Use of Controlled Postharvest Abiotic Stresses as a Tool for Enhancing the Nutraceutical Content and Adding-Value of Fresh Fruits and Vegetables. *Journal of Food Science*, 68: 1560-1565.
- Contreras-Calderón, J. (2011). Antioxidant capacity, phenolic content and vitamin C in pulp, peel and seed from 24 exotic fruits from Colombia. *Food Research International*, 44: 2047–2053.
- Coelho, A.A., Cenci, S.A., & Resende, E.D. (2010). Qualidade do suco de maracujá-amarelo em diferentes pontos de colheita e após o amadurecimento. *Ciência e agrotecnologia*, 34: 722-729.
- Dhawan, K., Dhawan S., & Sharma, A. (2004). Passiflora: a review update. *Journal Ethnopharmacol*, 94: 1-23.
- Embrapa. Produção brasileira de maracujá em 2013. Brasil. Disponível em https://www.embrapa.br/documents/1355135/1529009/Maracuja_Brasil_2013.pdf/f5d12c66-0a38-4ee2-9777-58d7efec84b3. Acesso 15 de fevereiro de 2016.
- Gershenzon, J. (1984). Changes in the levels of plants secondary metabolites under water and nutrient stress. *Recent Advances in Phytochemistry*, 18: 273:320.
- Giovannoni, J.J. (2004). Genetic regulation of fruit development and ripening. *The Plant Cell*, 16:170- 180.
- Giuffré, A. M. (2007). Chemical composition of purple passion fruit (*Passiflora edulis Sims edulis*) seed oil, *La Rivista Italiana Delle Sostanze Grasse*, 84: 87-93.
- Haminiuk, C.W.I, Maciel, G. M, Plata-Oviedo, M.S.V, & Perallta, R.M. (2012). Phenolic compounds in fruits – an overview. *International Journal of Food Science and Technology*, 47: 2023-2044.
- Instituto Nacional de Estatística. Estatística Agrícolas de 2012. Portugal. Disponível em: www.ine.pt. Acesso 15 de fevereiro de 2016.
- Janzantti, N.S., & Monteiro, M. (2014). Changes in the aroma of organic passion fruit (*Passiflora edulis Sims flavicarpa*) during ripeness. *Food Science and Technology*, 59: 612-620.

- Jorge, N., Malacrida, J., Angelo, P.M., & Andreo, D. (2009). Composição centesimal e atividade antioxidante do extrato de sementes de maracujá (*Passiflora edulis*) em óleo de soja. *Pesquisa Agropecuária Tropical*, 39: 380-385.
- Jiménez, A.M. (2011) Physicochemical characterisation of gulupa (*Passiflora edulis* Sims *edulis*) fruit from Colombia during the ripening. *Food Research International*, 44: 1912–1918.
- Kader, A.A., Yahia, E.M. (2011). Postharvest biology of tropical and subtropical fruits. In: Yahia, E.M. Woodhead Publishing Series in Food Science, Technology and Nutrition, 3: 88-118.
- Kahkonen, M.P., Hopia, A.I., Vuorela, H.J., Rauha, J.P., Pihlaja, K., Kujala, T.S., & Heinonen, M. (1999). Antioxidant Activity of Plant Extracts Containing Phenolic Compounds. *Journal Agricultural, Food Chemistry*, 47: 3954-3962.
- Kidoy, L., Nygard, A.M., Andersen, O.M., Pedersen, A.T., Aksnes, D.W., & Kiremire, B.T. (1997). Anthocyanins in fruits of *Passiflora edulis* and *Passiflora suberosa*. *Journal Food Composition Analysis*, 10: 49-54.
- Li, H., Zhou, P., Yang, Q., Shen, Y., Deng, J., Li, L., & Zhao, D. (2011). Comparative studies on anxiolytic activities and flavonoid compositions of *Passiflora edulis* ‘edulis’ and *Passiflora edulis* ‘flavicarpa’. *Journal of Ethnopharmacology*, 133: 1085–1090.
- Liew, S.Q., Chin, N.L., & Yusof, Y.A. (2014). Extraction and Characterization of Pectin from Passion Fruit Peels. *Agriculture and Agricultural Science Procedia*, 2: 231–236.
- Lopes, T.J., Xavier, M.F., Quadri, M.G.N., & Quadri, M.B. (2007). Antocianinas: uma breve revisão das características estruturais e estabilidade. *Revista Brasileira de agrociência*, 13: 291-297.
- Macoris, M.S., De Marchi, R., Janzantti, N.S., & Monteiro, M. (2012). The influence of ripening stage and cultivation system on the total antioxidant activity and total phenolic compounds of yellow passion fruit pulp. *Journal Science Food Agriculture*, 92: 1886–1891.
- Madeira, B. Pequenos Frutos. Coimbra, (2013). Disponível em: <http://hdl.handle.net/10316.2/25449>. Acesso 15 de fevereiro de 2016.
- Malacrida, C.R., & Jorge, N. (2012). Yellow Passion Fruit Seed Oil (*Passiflora edulis* f. *flavicarpa*): Physical and Chemical Characteristics. *Brazilian Archives of Biology and Technology*, 55: 127-134.

- Meletti, L.M.M. (2005). Maracujá-roxo. *Revista Brasileira de fruticultura*, 27: 194 – 348.
- Malheiro, R., Casal, S., Lamas, H., Bento, A., Pereira, J.A. (2012). Can tea extracts protect extra virgin olive oil from oxidation during microwave heating? *Food Research International*, 48: 148–154.
- Martins, I., Peixoto, J.R., & Mello, S.C.M. (2006). Evolução do maracujazeiro amarelo no Brasil, as principais doenças e possibilidade de aplicação do controle biológico. *Embrapa Documentos*, 203: 5-32.
- Morais, D.R., Rotta, E.M., Sargi, S.C., Schmidt, E.M., Bonafe, E.G., Eberlin, M.N., Sawaya, A.C.H.F., & Visentainer, J.V. (2015). Antioxidant activity, phenolics and UPLC-ESI(-)MS of extracts from diferente tropical fruits parts and processed pells. *Food Research International*, 77: 392-399.
- Nordey, T., Léchaudel, M., Génard, M., & Joas, J. (2016). Factors affecting ethylene and carbon dioxide concentrations during ripening: Incidence on final dry matter, total soluble solids content and acidity of mango fruit. *Journal of Plant Physiology*, 196: 70–78.
- NP 1421 (1977). Géneros alimentícios derivados de frutos e de produtos hortícolas.
- Oliveira, A.C., Valentim, I.B., Silva, C.A., Bechara, E.J.H., Barros, M.P., Mano, C.M., & Goulart, M.O.F. (2009). Total phenolic content and free radical scavenging activities of methanolic extract powders of tropical fruit residues. *Food Chemistry*, 115:469–475.
- Pertuzatti, P.B., Sganzerla, M., Jacques, A.C., Barcia, M.T., & Zambiasi, R.C. (2015). Carotenoids, tocopherols and ascorbic acid content in yellow passion fruit (*Passiflora edulis*) grown under different cultivation systems. *Food Science and Technology*, 64: 259-263.
- Peske, S.T., Rosenthal, M.A., & Rota, G.R.M. (2003). Sementes: funcionamentos científicos e tecnológicos. Pelotas, Brasil.
- Porto-Figueira, P. (2015). Profiling of passion fruit volatiles: An effective tool to discriminate between species and varieties. *Food Research International*, 77: 77 p.408–418.
- Prasanna, V., Prabha, T.N., & Tharanathan, R.N. (2007). Fruit Ripening Phenomena—An Overview. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 47:1–19.
- Re, R., Pellegrini, N., Proteggente, A., Pannala, A., Yang, M., & Rice-Evans, C. (1999). Antioxidant activity applying an improved ABTS radical cation decolorization assay. *Free Radical Biology and Medicine*, 26: 1231–1237.

- Regis, S.A., Resende, E.D., Antoniassi, R., & Gravina, G.A. Influência do estágio de maturação sobre rendimento e qualidade do óleo das sementes de maracujá-amarelo. 2011. Disponível em: <http://www.alice.cnptia.embrapa.br/handle/doc/916925>. Acesso 15 de fevereiro de 2016.
- Rice-Evans, C.A., Miller, N.J., & Paganga, G. (1997). Antioxidant properties of phenolic compounds. *Trends in Plant Science*, 22: 152-159.
- Romero-Rodriguez, M.A., Vazquez-Oderiz, M.L., Lopez- Hernandez, J., & Simal-Lozano, J. (1994). Composition of babaco, feijoa, Passion fruit and tamarillo produced in Galicia (NW Spain). *Food Chemistry*, 49: 23-27.
- Saravanan, S., & Parimelazhagan, T. (2014). *In vitro* antioxidant, antimicrobial and anti-diabetic properties of polyphenols of *Passiflora ligularis* Juss fruit pulp. *Food Science and Human Wellness*, 3: 56-64.
- Sato, G.S., Martins, V.A., & Bueno, C.R.F. (2007). Análise exploratória do perfil do consumidor de produtos minimamente processados na cidade de São Paulo. *Informações Econômicas*, 37: 62-71.
- Septembre-Malaterre, A., Stanilas, G., Douraguia, E., & Gonthier, M.P. (2016). Evaluation of nutritional and antioxidant properties of the tropical fruits banana, litchi, mango, papaya, passion fruit and pineapple cultivated in Réunion French Island. *Food Chemistry*, 212: 225–233.
- Schotsmans, W.C., & Fischer, G. (2011). Passion fruit (*Passiflora edulis* Sims.). *Food Science, Technology and Nutrition*, 125: 142-143.
- Silva, L.M.R., Figueiredo, E.A.T., Ricardo, N.M.P.S., Vieira, I.C.P., Figueiredo, R.W., Brasil, I.M., Gomes, C.L. (2014). Quantification of bioactive compounds in pulps and by-products of tropical fruits from Brazil. *Food Chemistry*, 143: 398-404.
- Silva, T.V., Resende, E.D., Viana, A.P., Carriello, R.C., Pereira, S.M.F., Carlos, L.A., & Vitorazi, L. (2005). Influência dos estágios de maturação na qualidade do suco do maracujá-amarelo. *Revista Brasileira. Fruticultura*, 27: 472-475.
- Silva, G.C., & Bottoli, C.B.G. (2015). Analyses of *Passiflora* Compounds by Chromatographic and Electrophoretic Techniques, *Critical Reviews in Analytical Chemistry*, 45: 76-95.
- Silva, M.L.C., Costa, R.S., Santana, A.S., & Koblitiz, M.G.B. (2010). Compostos fenólicos, carotenoides e atividade antioxidante em produtos vegetais. *Ciências Agrárias*, 31: 669-682.

- Shiomi, S., Wamochi, L.S., & Agong, S.G. (1996). Ripening characteristics of purple passion fruit on and off the vine. *Postharvest Biology and Technology*, 7: 161-170.
- Soares, S.E. (2002). Ácidos fenólicos como antioxidantes. *Revista de Nutrição*, 15: 71-81.
- Soong, Y.Y., & Barlow, P.J. (2004). Antioxidant activity and phenolic content of selected fruit seeds. *Food Chemistry*, 88: 411-417.
- Souza, M.W.S., Ferreira, T.B.O., & Vieira, I.F.R. (2008). Composição centesimal e propriedades funcionais tecnológicas da farinha da casca do maracujá. *Alimentação e Nutrição*, 19: 33-36.
- Su, M.S., & Chien, P.J. (2007). Antioxidant activity, anthocyanins, and phenolics of rabbiteye blueberry (*Vaccinium ashei*) fluid products as affected by fermentation. *Food Chemistry*, 104: 182-187.
- Treutter, D. (2006). Significance of flavonoids in plant resistance: a review. *Environmental Chemistry Letters*, 4: 147-157.
- Vasco, C., Ruales, J., & Kamal-Eldin, A. (2008). Total phenolic compounds and antioxidant capacities of major fruits from Ecuador. *Food Chemistry*, 111: 816-823.
- Vianna-Silva, T., Resende, E.D., Viana, A.P., Carriello, R.C., Pereira, S.M.F., Carlos, L.A., & Vitorazi, L. (2008). Influência dos estádios de maturação sobre as características físicas dos frutos de maracujá-amarelo. *Bragantia*, 67: 521-525.
- Watson, R.R., Zibadi, S., Rafatpanah, H., Jabbari, F., Ghasemi, R., Ghafari, J., Afrasiabi, H., Foo, L.Y., & Faridhosseini, R. (2008). Oral administration of the purple passion fruit peel extract reduces wheeze and cough and improves shortness of breath in adults with asthma. *Nutrition Research*, 28: 166-171.
- Wondracek, D.C., Faleiro, F.G., Sano, S.M., Vieira, R.F., & Agostini-costa, T.S. (2011). Composição de carotenóides em Passifloras do cerrado. *Revista Brasileira de Fruticultura*, 33: 1222-1228.
- Young, A.J., Phillip, D.M., Lowe, & G.M. (2004). Carotenoid antioxidant activity. In: Krinsky, N.I., Mayne, S.T., Sies, H. (Eds.). *Carotenoids in Human Health*, Taylor & Francis, Nova Iorque, pp. 105-126. ISBN: 978-0-203-02664-9.
- Zeraik, M.L., Pereira, C.A.M., Zuin, V.G., & Yariwake, J.H. (2010). Maracujá: um alimento funcional? *Revista Brasileira de Farmacognosia*, 20: 459-471.

Zibadi, S., Farid, R., Moriguchi, S., Lu, Y., Foo, L. Y., Tehrani, P. M., Ulreich, J.B., & Watson, R. R. (2007). Oral administration of purple passion fruit peel extract attenuates blood pressure in female spontaneously hypertensive rats and humans. *Nutrition Research*, 27: 408 -416.