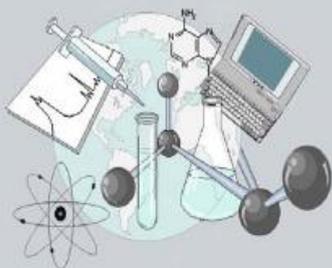




UNIVERSIDADE ESTADUAL DE MARINGÁ
CENTRO DE CIÊNCIAS EXATAS
DEPARTAMENTO DE QUÍMICA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM QUÍMICA

**“AVALIAÇÃO DA CORRELAÇÃO ENTRE CAPACIDADE
ANTIOXIDANTE E ESCURECIMENTO ENZIMÁTICO DE NOVOS
CULTIVARES DE MAÇÃS”.**

Dissertação apresentada por
Luciana Ercoli ao Programa de Pós-
Graduação em Química do Departamento
de Química do Centro de Ciências Exatas
da Universidade Estadual de Maringá



Centro de
Ciências Exatas

MARINGÁ, março de 2013.

LUCIANA ERCOLI

**AVALIAÇÃO DA CORRELAÇÃO ENTRE CAPACIDADE ANTIOXIDANTE E
ESCURECIMENTO ENZIMÁTICO DE NOVOS CULTIVARES DE MAÇÃS**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Química do Departamento de Química do Centro de Ciências Exatas da Universidade Estadual de Maringá como parte dos requisitos para a obtenção do título de Mestre em Química.

Orientador: Prof. Dr. Vítor de Cinque Almeida
(DQI-UEM).

Co-orientador: Prof. Dr. Jesuí Vergílio
Visentainer (DQI-UEM)

MARINGÁ, março de 2013

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP)
(Biblioteca Central - UEM, Maringá, PR, Brasil)

E65a Ercoli, Luciana
Avaliação da correlação entre capacidade antioxidante e escurecimento enzimático de novos cultivares de maçãs / Luciana Ercoli. -- Maringá, 2013.
72 f. : il. color., figs., tabs. + Anexos

Orientador: Prof. Dr. Vitor de Cinque Almeida.
Coorientador: Prof. Dr. Jesuí Vergílio Visentainer.
Dissertação (mestrado) - Universidade Estadual de Maringá, Centro de Ciências Exatas, Departamento de Química, Programa de Pós-Graduação em Química, 2013.

1. Química Analítica Quantitativa. 2. Compostos Fenólicos Totais. 3. Polifenoloxidase - Escurecimento Enzimático. 4. Maça - Melhoramento Genético. I. Almeida, Vitor de Cinque, orient. II. Visentainer, Jesuí Vergílio, coorient. III. Universidade Estadual de Maringá. Centro de Ciências Exatas. Departamento de Química. Programa de Pós-Graduação em Química. IV. Título.

CDD 21.ed. 545.83

MN-001694

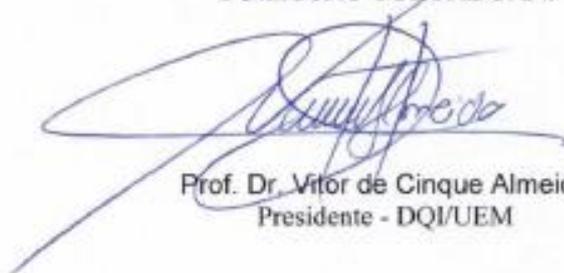


Universidade Estadual de Maringá

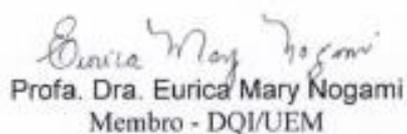
Centro de Ciências Exatas
Departamento de Química
Programa de Pós-Graduação em Química

Este é o exemplar definitivo da Dissertação apresentada por **Luciana Ercoli**, perante a Comissão Julgadora do Programa de Pós-Graduação em Química em 14 de março de 2013.

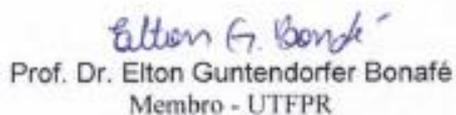
COMISSÃO JULGADORA:



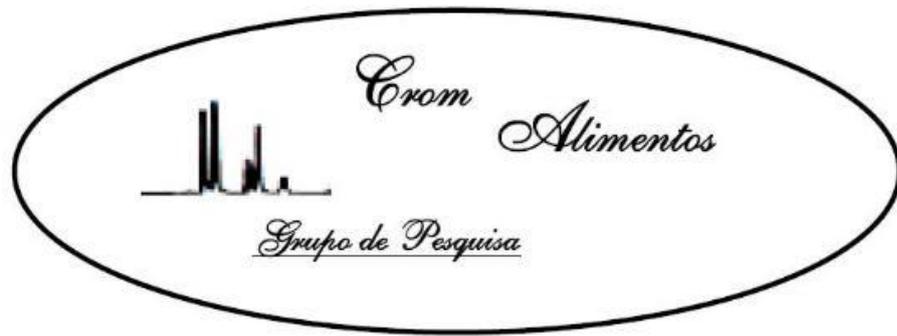
Prof. Dr. Vitor de Cinque Almeida
Presidente - DQI/UEM



Profa. Dra. Eurica Mary Nogami
Membro - DQI/UEM



Prof. Dr. Elton Guntendorfer Bonafé
Membro - UTFPR



“Tenha sempre em mente que a pele enruga.
O cabelo embranquece e os dias convertem-se em anos.
Mas o que é importante, não muda.
A tua força e convicção não têm idade.
O teu espírito é como qualquer teia de aranha.
Atrás de cada linha de chegada, há uma de partida.
Atrás de cada conquista, vem um novo desafio.
Enquanto estiver vivo, sinta-se vivo.
Se sentir saudades do que fazia, volte a fazê-lo.
Não viva de fotografias amareladas.
Continue, quando todos esperam que desista.
Não deixe que enferruje o ferro que existe em você.
Faça com que, em vez de pena, tenham respeito por você.
Quando não conseguir correr através dos anos, trote.
Quando não conseguir trotar, caminhe.
Quando não conseguir caminhar, use uma bengala.
Mas nunca se detenha.
Lute sempre.”

AGRADECIMENTOS

A Deus, que está acima de tudo, por dar o dom da vida e ter me ensinado a verdadeira essência de vida. Por me abençoar com saúde, uma família e amigos, e por ter a certeza que sempre está comigo nos momentos alegres e principalmente nos mais difíceis.

Ao Prof^o. Dr^o. Vítor de Cinque Almeida por me orientar nesta pesquisa, por ter acreditado em mim e com paciência e dedicação, ter-me conduzido e me ensinado para que esta pesquisa tenha se finalizado.

Ao Prof^o. Dr^o. Jesuí Vergílio Visentainer pela co-orientação e por todos os conhecimentos transmitidos.

À Empresa de Pesquisa Agropecuária e Extensão Rural de Santa Catarina (EPAGRI/SC), em especial ao agrônomo Marcus Vinícius Kvitschal, da Estação Experimental de Caçador, pelo fornecimento das diferentes cultivares de maçãs.

À minha família por terem me incentivado, me apoiado financeiramente, acreditado em mim e por ter me ensinado que “tudo o que se planta um dia colherá, e se plantarem frutos bons, assim será sua colheita”.

Ao meu esposo Ricardo, por seu amor, incentivo, paciência, apoio financeiro e emocional e por sempre estar ao meu lado em todos os momentos. Te amo!

Ao laboratório de Química de Alimentos da Universidade Estadual de Maringá e amigos que ali se encontram, pela ajuda, apoio, ensinamentos e por sempre estarem receptivos e animados.

À Banca examinadora.

A Universidade Estadual de Maringá, ao Programa de Pós-Graduação em Química pela estrutura física e profissional durante minha formação.

A Universidade Tecnológica Federal do Paraná pela parceria acadêmica e disponibilização do espaço físico e equipamentos, aos amigos e técnicos de laboratório e em especial à professora Ailey Aparecida Coelho Tanamati pela ajuda e apoio em parte da pesquisa realizada neste ambiente.

À minha colega de mestrado Érica, que sempre me ajudou quando precisei.

Aos meus amigos de viagem por sempre me animarem e pela companhia.

A todos os amigos e familiares que passaram na minha vida e contribuíram para que eu chegasse até aqui.

ERCOLI, Luciana. **Avaliação da correlação entre capacidade antioxidante e escurecimento enzimático de novos cultivares de maçãs**. 2014. 72 f. Dissertação, (Mestrado em Química). Área de concentração: Química Analítica. UEM – Universidade Estadual de Maringá. Maringá, PR, Brasil.

RESUMO

A maçã (*Malus domestica* Borkh) muito consumida em diversas regiões do mundo é considerada uma fruta rica em compostos fenólicos, os quais variam conforme a cultivar e a parte da fruta analisada. Este estudo objetivou analisar variedades de maçãs melhoradas geneticamente realizando estudo de correlação entre escurecimento enzimático e capacidade antioxidante. Algumas cultivares melhoradas geneticamente deste estudo apresentaram retardo no escurecimento enzimático. A amostra é composta por sete cultivares de maçãs melhoradas geneticamente e três comerciais (Epagri-170/25, Epagri-170/40, Epagri-170/65, Epagri-170/91, Epagri-M11/00, Epagri-M3/02, Epagri-M15/07, Daiane, Monalisa e Jazz. As amostras foram avaliadas quanto aos resultados analíticos e das correlações entre capacidade antioxidante (aplicando os ensaios de DPPH e FRAP), teores de polifenóis (FT), antocianinas, ácido ascórbico, escurecimento enzimático (%E), atividade da enzima polifenoloxidase (APPO) e acidez total (ATT). Os maiores teores de compostos fenólicos presentes nas cascas e polpas foram obtidos pela cultivar Epagri-170/91. Análises da capacidade antioxidante das cascas mostraram que os melhores resultados foram encontrados para a Epagri-170/91 e Epagri-170/25, aplicando os ensaios de DPPH e FRAP, respectivamente. Por sua vez, as análises das polpas mostraram que os melhores resultados foram observados no cultivar Epagri-M3/02 (ensaio de DPPH) e Epagri-170/91 (ensaio FRAP). Os valores das capacidades antioxidantes foram correlacionados com os teores de fenólicos totais e os resultados apresentaram valores de $R > 0,7$, indicando que os compostos polifenólicos contribuem para a atividade antioxidante das frutas. Dentre as amostras Epagri, algumas apresentaram um retardo no escurecimento enzimático quando expostas ao oxigênio do ar por um longo período. Sendo assim, as análises da atividade e escurecimento enzimático realizadas mostraram que as respostas mais significativas foram para Epagri-170/91 e Epagri-170/25. Análise de correlação de Pearson para os parâmetros analisados foram realizados e os maiores valores foram observados para as correlações $ATT \times \%E$ ($R= 0,773$), $APPO \times \%E$ ($R = 0,658$), indicando que o escurecimento das frutas é inversamente proporcional a acidez e proporcional a atividade da enzima polifenoloxidase.

Palavras-chave: Maçã, Análise de correlação, Melhoramento genético, Capacidade antioxidante, Compostos fenólicos totais, Polifenoloxidase, Escurecimento enzimático.

ERCOLI, Luciana. **Correlation between antioxidant capacity and enzymatic browning of new apple varieties**. 2014. 72 f. Dissertation (Master in Chemistry). Area of concentration: Analytical Chemistry. UEM – Universidade Estadual de Maringá. Maringá, PR, Brazil

ABSTRACT

The apple (*Malus domestica* Borkh) consumed in very different regions of the world is a rich fruit in phenolic compounds, which vary according to the cultivar and part of the fruit analyzed. This study aimed to analyze genetically improved varieties of apples performing correlation study between enzymatic browning and antioxidant capacity. Some genetically improved cultivars in this study had a delay in enzymatic browning. The sample is composed of seven genetically improved cultivars of apples and three commercial (Epagri-170/25, Epagri-170/40, Epagri-170/65, Epagri-170/91, Epagri-M11/00, Epagri-M3/02, Epagri-M15/07, Daiane, Monalisa and Jazz). The samples were evaluated for the analytical results and the correlations between antioxidant capacity (applying the DPPH and FRAP assays), polyphenol concentration (FT), anthocyanins, ascorbic acid, darkening Enzyme (% E), PPO activity (APPO) and total acidity (TA). Higher levels of phenolics present in apples skins and pulps were obtained by cultivating Epagri-170/91. Analysis of antioxidant capacity of the shells showed that the best results were found for the Epagri-170/91 and Epagri-170/25 applying the DPPH test and FRAP, respectively. Analyses of the pulps show that the best results were observed in cultivating Epagri-M3/02 (DPPH assay) and Epagri-170/91 (FRAP assay). The antioxidant capacity values were correlated with the contents of total phenolics and the results showed values of $R > 0.7$, indicating that the polyphenolic compounds contribute to antioxidant activity of the fruits. Among the Epagri samples, some showed a delay in some enzymatic browning when exposed to oxygen in the air for a long period of time. Thus, analysis of the activity and enzymatic browning carried out showed that the most significant responses were for Epagri-170/91 and Epagri-170/25. Pearson correlation analysis for the evaluation was conducted and the highest values were observed for correlations ATT x % E ($R = 0,773$), APPO x % E ($R = 0,658$) indicating that the browning of the fruits is inversely proportional to the acidity and PPO activity.

Key-Words: Apple, correlation analysis, genetic improvement, antioxidant capacity, total phenolic, polyphenol oxidase, enzyme browning.

LISTA DE ABREVIATURAS

% E	–	Porcentagem de escurecimento enzimático
[Fe (TPTZ)] ⁺²	–	Complexo ferroso de 2,4,6-tripiridil-1,3,5-triazina
[Fe (TPTZ)] ⁺³	–	Complexo férrico de 2,4,6-tripiridil-1,3,5-triazina
AA	–	Ácido ascórbico
AM	–	Ácido málico
ANOVA	–	Análise de variância
ATT	–	Acidez total titulável
BU	–	Base úmida
BS	–	Base seca
CAT	–	Capacidade Antioxidante
cy-3-gal	–	cy-3-gal- cianidin3-glicosídeo
DCFI	–	2,6 diclorofenolindofenol
DP	–	Desvio padrão
DPPH	–	radical (2,2-difenil-1-picrilhidrazil)
EAG	–	Equivalentes de ácido gálico
EPAGRI	–	Empresa de Pesquisa Agropecuária e Extensão Rural de Santa Catarina
ERN	–	Espécies reativas de nitrogênio
ERO	–	Espécies reativas do oxigênio
ET	–	Equivalente Trolox
FDA	–	Food and Drug Administration
FRAP	–	Ferric Reducing Antioxidant Power
FT	–	Fenólicos Totais
H ₃ PMo ₁₂ O ₄₀	–	Ácido fosfomolibdico
H ₃ PW ₁₂ O ₄₀	–	Ácido fosfotungstico
Mo ₈ O ₂₃	–	Óxido de molibdênio
PPO	–	Polifenoloxidase
PVC	–	Policloreto de Vinil
PVP	–	Polivinilpirrolidona
TAC	–	Teor de Antocianinas
Trolox	–	(6-hidroxi-2,5,7,8-tetrametilchroman-2-ácido carboxílico)
W ₈ O ₂₃	–	Óxido de tungstênio

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 – Estrutura morfológica de maçãs.....	18
Figura 2 – Estrutura de compostos fenólicos comuns em maçã.....	21
Figura 3 – Reação de oxidação de compostos fenólicos catalisado pela enzima Polifenoloxidase.....	23
Figura 4 – Redução do complexo férrico $[\text{Fe}(\text{TPTZ})_2]^{3+}$ a ferroso $[\text{Fe}(\text{TPTZ})]^{2+}$ pela ação de antioxidante.....	23
Figura 5 – Reação da captura do radical livre DPPH pelos antioxidantes presentes na amostra alimentícia.....	24
Figura 6 – Quantificação de compostos fenólicos totais pelo reagente de Folin- Ciocalteu....	25
Figura 7 – Casca e polpa de maçã liofilizada em pó.....	26
Figura 8 – Delineamento experimental.....	29
Figura 9 – Imagem externa e interna do reator utilizado para análise do escurecimento enzimático e demonstração de procedimento experimental de coleta de dados para este estudo.....	35
Figura 10 – Resultado da Capacidade Antioxidante obtida pelos ensaios de DPPH* (mmol ET.100 g ⁻¹) e FRAP (mmol Fe ²⁺ . 100 g ⁻¹) de <i>cascas</i> de dez cultivares de maçãs, expressos em base seca (BS). ET - Equivalente Trólox. Valores representados como valor médio ± desvio padrão da triplicata.....	37
Figura 11 – Resultado da Capacidade Antioxidante obtida pelos ensaios de DPPH* (mmol ET. 100 g ⁻¹) e FRAP (mmol Fe ²⁺ . 100 g ⁻¹) de <i>polpas</i> de dez cultivares de maçãs, expressos em base seca (BS). ET - Equivalente Trólox. Valores representados como valor médio ± desvio padrão da triplicata.....	37
Figura 12 – Teor de compostos fenólicos (FT em g EAG. 100 g ⁻¹) em polpas e cascas de dez cultivares de maçãs expressos em base seca (BS). EAG - Equivalente Ácido Gálico. Valores representados como valor médio ± desvio padrão da triplicata.....	38
Figura 13 – Teor de antocianinas (TAC em mg cy-3-gal. 100 g ⁻¹) em cascas de 10 cultivares de maçãs expressos em base seca (BS). cy-3-gal - cianidin3-glucosídeo. Valores representados como valor médio ± desvio padrão da triplicata.....	39

Figura 14 – Teor de vitamina C (mg AA. 100 g ⁻¹ amostra <i>in natura</i>) em polpas e cascas de dez cultivares de maçãs expressos em base úmida (BU). AA - ácido ascórbico. Valores representados como valor médio ± desvio padrão da triplicata.	40
Figura 15 – Atividade enzimática polifenoloxidase - U. (min. g) ⁻¹ de polpas <i>in natura</i> de dez cultivares de maçãs. Os resultados foram expressos em base úmida (BU). Valores representados como valor médio ± desvio padrão da triplicata.	41
Figura 16 – Parâmetro L* (luminosidade) - [Escala: 0 (preto) a 100 (branco)] de dez cultivares de maçãs expressos em base úmida (BU). Valores representados como valor médio ± desvio padrão da triplicata.	42
Figura 17 – Escurecimento enzimático (%) de dez cultivares de maçãs expressos em base úmida (BU). Valores representados como valor médio ± desvio padrão da triplicata.	43
Figura 18 – (a) Parâmetro a* (cromaticidade) de dez cultivares de maçãs expressos em base úmida (BU). Valores representados como valor médio ± desvio padrão da triplicata.	43
Figura 19 – Acidez total titulável (g AM. 100 g ⁻¹ amostra) de dez cultivares de maçãs expressos em base úmida (BU). Valores representados como valor médio ± desvio padrão da triplicata. AM- Ácido Málico.	45
Figura 20 – Correlação entre DPPH versus FRAP de polpas (a) e das cascas (b) de dez cultivares de maçãs.	46
Figura 21 – Correlação entre DPPH versus Fenólicos Totais (FT) de polpas (a) e cascas (b) das 10 cultivares de maçãs.	47
Figura 22 – Correlação entre versus FRAP e fenólicos totais (FT) das polpas (a) e cascas (b) de dez cultivares de maçãs.	48
Figura 23 – Correlação entre FT e Antocianinas de casca de 10 cultivares de maçãs.	49

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 – Valores de regressão linear e coeficiente de correlação das análises <i>FT</i> , <i>ATT</i> , <i>APPO</i> , <i>%E</i> e <i>vitamina C</i> da polpa das maçãs.	51
--	----

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO	16
2	REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	18
2.1	MAÇÃ	18
2.2	MELHORAMENTO GENÉTICO DE MACIEIRA	19
2.3	CAPACIDADE ANTIOXIDANTE EM ALIMENTOS	20
2.4	COMPOSTOS FENÓLICOS	20
2.5	POLIFENOLOXIDASE E O ESCURECIMENTO ENZIMÁTICO DE FRUTAS	22
2.6	MÉTODOS ANALÍTICOS PARA DETERMINAÇÃO DA CAPACIDADE ANTIOXIDANTE E COMPOSTOS FENÓLICOS TOTAIS	23
2.7	CORRELAÇÃO DE PEARSON	25
2.8	LIOFILIZAÇÃO	25
3	OBJETIVOS	27
3.1	OBJETIVO GERAL	27
3.2	OBJETIVOS ESPECÍFICOS	27
4	MATERIAIS E MÉTODOS	28
4.1	REAGENTES E AMOSTRAS	28
4.2	DELINEAMENTO EXPERIMENTAL	28
4.3	PREPARO DAS AMOSTRAS	29
4.4	OBTENÇÃO DOS EXTRATOS DE POLPAS E CASCAS DAS MAÇÃS PARA ANÁLISES DA ATIVIDADE ANTIOXIDANTE	29
4.5	DETERMINAÇÃO DA CAPACIDADE ANTIOXIDANTE PELO ENSAIO FRAP (FERRIC REDUCING ABILITY POWER)	30
4.6	CAPACIDADE ANTIOXIDANTE DETERMINADA PELO ENSAIO DO RADICAL DPPH	30
4.7	DETERMINAÇÃO DO TEOR DE COMPOSTOS FENÓLICOS TOTAIS (FT)	31
4.8	TEOR DE ANTOCIANINAS	31
4.9	TEOR DE ÁCIDO ASCÓRBICO (VITAMINA C)	32
4.10	ESTUDO DO ESCURECIMENTO ENZIMÁTICO	33
4.10.1	Obtenção do Extrato Enzimático da Polpa	33
4.10.2	Atividade da Polifenoloxidase (APPO)	33
4.10.3	Análise da Cor e % Escurecimento Enzimático	34

4.10.4	Acidez Total Titulável (ATT)	35
5	RESULTADOS E DISCUSSÃO	36
5.1	CAPACIDADE ANTIOXIDANTE DE POLPA E CASCA	36
5.1.1	Capacidade Antioxidante (CAT) pelo ensaio FRAP e DPPH	36
5.1.2	Teores de Compostos Fenólicos Totais (FT)	38
5.1.3	Teor de Antocianinas (TAC)	39
5.1.4	Teor de Ácido Ascórbico	40
5.2	ESTUDO DA ATIVIDADE ENZIMÁTICA EM POLPAS.....	40
5.2.1	Atividade Enzimática da Polifenoloxidase (APPO).....	40
5.2.2	Análise da cor e % Escurecimento Enzimático	41
5.2.3	Acidez total titulável (ATT).....	44
5.3	ANÁLISE DAS CORRELAÇÕES	45
5.3.1	Correlação entre Valores de CAT.....	45
5.3.2	Correlação entre Valores de FT, APPO, % E, ATT e Vitamina C.....	49
	CONCLUSÃO.....	52
	REFERÊNCIAS	54
	ANEXOS	63
	ANEXO 1 – EPAGRI EMPRESA DE PESQUISA AGROPECUÁRIA E EXTENSÃO – CAÇADOR-SC	64
	ANEXO 2 – ANÁLISE DO ESCURECIMENTO ENZIMÁTICO	65
	ANEXO 3 - RESULTADO DA CAPACIDADE ANTIOXIDANTE OBTIDA PELOS ENSAIOS DE DPPH E FRAP DE POLPA E CASCA DE DEZ CULTIVARES DE MAÇÃS.....	66
	ANEXO 4 – QUANTIDADE DE COMPOSTOS FENÓLICOS TOTAIS EM POLPAS E CASCAS DE DEZ CULTIVARES DE MAÇÃS	67
	ANEXO 5- TEOR DE ANTOCIANINAS DE CASCAS.....	68
	ANEXO 7 – ATIVIDADE DA ENZIMA POLIFENOLOXIDASE (APPO) DE DEZ CULTIVARES DE MAÇÃS.....	70
	ANEXO 8 – ANÁLISE DA COR E % DE ESCURECIMENTO DE DEZ CULTIVARES DE MAÇÃS.....	71
	ANEXO 9 – ACIDEZ TOTAL TITULÁVEL (ATT) DE DEZ CULTIVARES DE MAÇÃS	72
	ANEXO 10 – CORRELAÇÃO.....	73

1 INTRODUÇÃO

A maçã (*Malus domestica*) é o fruto proveniente da macieira e constitui-se em um dos frutos de clima temperado mais comercializado, na forma *in natura*, em todo o mundo (SIMÕES et al., 2009). O seu consumo tem sido atribuído à prevenção e proteção de várias doenças degenerativas em humanos, devido em grande parte ao seu conteúdo de compostos antioxidantes (BOYER & LIU, 2004; DI PIETRO et al., 2007; HYSON et al., 2000).

O consumo de alimentos contendo substâncias antioxidantes pode produzir ação protetora efetiva contra processos oxidativos que ocorrem no organismo. Estes processos produzem formas de oxigênio reativas, os quais seus danos têm sido associados a doenças como o câncer, aterosclerose, diabetes, artrite, malária, doenças do coração, e também pelo envelhecimento (DEGASPARI & WASZCZYNSKYJ, 2004). Nos frutos de maçã, os compostos fenólicos são os principais responsáveis pela atividade antioxidantes (LEE et al., 2003; TSAO et al., 2005).

Os compostos fenólicos são metabólitos secundários sintetizados por plantas durante o desenvolvimento normal e em resposta a condições de estresse tais como infecção, danos mecânicos, radiação UV, entre outras (NACKH & SHAHIDI, 2006). Estes compostos possuem estrutura variável e são multifuncionais, sendo os flavonóides o grupo de compostos fenólicos mais abundantes no reino vegetal (BOROSKI et al., 2011). Os compostos fenólicos podem reagir com oxigênio do ar a partir de uma reação de oxidação a qual é catalisada por um grupo de enzimas denominadas polifenol oxidase (PPO). Como consequência, há o surgimento de pigmentos escuros na superfície de frutas e vegetais, que foram cortados e expostos ao ambiente (COLLINS e MCCARTY, 1969; MAPSON et al., 1963; WHITAKER & CHANG, 1994). O produto inicial desta reação é a quinona, a qual se condensa rapidamente produzindo a melanina, que são caracterizadas por serem os pigmentos escuros insolúveis e aparentes nas frutas (ORTOLAN, 2006). Além do escurecimento, a reação de oxidação promove o desenvolvimento de sabores desagradáveis e a perda na qualidade nutricional. Estudos realizados em diferentes cultivares de maçãs tem mostrado que a suscetibilidade ao escurecimento é dependente da atividade da PPO, da degradação dos compostos fenólicos ou ambos (GOUPY et al., 1995) e do pH do tecido vegetal (YANG et al., 2000).

O cultivo da maçã ocorre em todos os continentes do mundo, apresentando mais de 7500 espécies e diferentes cultivares. Este número de espécies e cultivares tendem a crescer, uma vez que estudos a partir de melhoramento genético têm sido realizados com objetivo de

se obter frutos que sejam mais adaptáveis às condições do clima e do solo dos locais de plantio, sendo assim, resistentes às principais pragas e doenças. Diante do surgimento de novas cultivares e do conhecimento que a maçã é fruto que possui teores consideráveis de compostos fenólicos, alguns trabalhos têm estudado a relação entre os teores de compostos fenólicos e atividade antioxidante de novos cultivares em comparação aos comerciais (KHANIZADEH et al., 2008; SCALZO et al., 2005). Dentre os métodos para determinação da atividade antioxidante e conteúdo de fenólicos totais em frutas, os mais utilizados são os métodos FRAP (BENZIE e STRAIN, 1996) e DDPH (PRIOR et al., 2005) para a atividade antioxidante e o método de Folin-Ciocalteu (SINGLETON e ROSSI, 1965) para os fenólicos totais. Os resultados deste tipo de estudo mostraram que os teores de compostos fenólicos e atividade antioxidante são dependentes do tipo de cultivar de maçã avaliada. Adicionalmente, estudos prévios constaram que dentre novos cultivares desenvolvidos, alguns com altos valores de capacidade antioxidantes apresentaram uma característica de retardamento do escurecimento da fruta após o seu corte.

Além da necessidade de se obter frutos de maçãs com características agronômicas desejáveis, os novos cultivares devem apresentar características atraentes para o consumidor, o que o credenciaria como um produto de bom aceite no mercado. Por outro lado, as demais frutas podem, por sua vez, serem utilizadas no setor industrial o qual se utiliza destes frutos para produção de sucos, polpas e aromatizantes.

Diante da necessidade de informações quanto as características de compostos bioativos e qualidade dos novos cultivares de frutas, o presente trabalho propõem avaliar a capacidade antioxidante e teores de fenólicos totais de 7 novos cultivares de maçãs e correlacionar estes valores com escurecimento das frutas, assim como a atividade da PPO e acidez total titulável (ATT).

2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

2.1 MAÇÃ

A maçã é uma das frutas mais cultivadas e consumidas em todo o mundo, possuindo mais de 7.500 espécies e cultivares. O seu cultivo tem sido realizado em todos os continentes, sendo que o continente Asiático é responsável por grande parte de toda área cultivada do mundo (ABPM, 2009). O Brasil é o terceiro maior produtor de maçãs da América do Sul, representando aproximadamente 1,5 % da produção mundial. Santa Catarina é o maior estado produtor com 51% da produção nacional. Com a evolução do setor cultivado e o aumento da competitividade, as regiões produtoras estão cada vez mais concentradas em locais que apresentam vantagens que permitam a alta produtividade, elevado índice de qualidade e estrutura de comercialização (IBGE, 2011).

Os frutos da macieira apresentam estrutura básica constituída de semente e pericarpo, este último por sua vez compõe-se de três partes básicas: endocarpo, mesocarpo e epicarpo (Vieira, 2010) (Figura 1). Neste estudo, foi avaliado o mesocarpo de maçãs, designado por polpa e o epicarpo designado por casca.

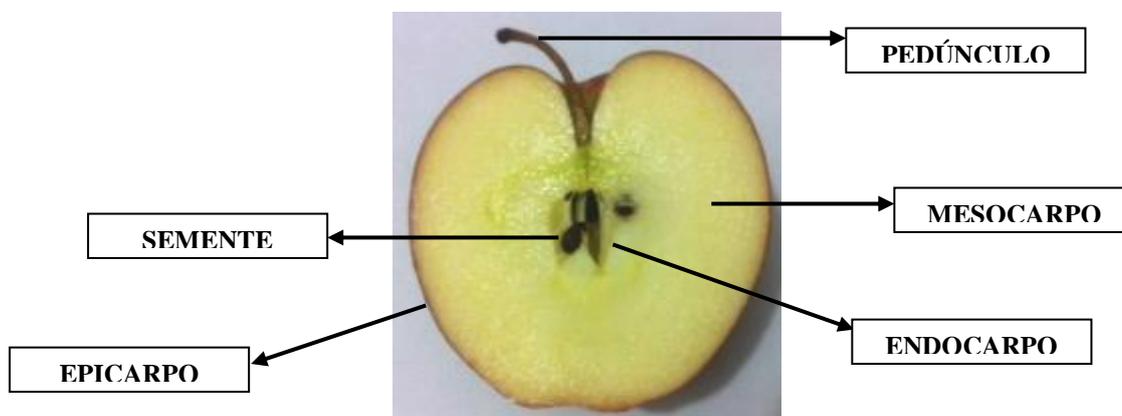


Figura 1 – Estrutura morfológica de maçãs.

Fonte: Arquivo pessoal (2014).

Maçã constitui uma parte importante da dieta humana, uma vez que é fonte de monossacarídeos, minerais, fibras e compostos biologicamente ativos, tais como a vitamina C e compostos fenólicos que são conhecidos por atuar como antioxidantes naturais. (Wu et al., 2007). Os compostos fenólicos tais como flavonóides, polifenóis e ácidos fenólicos, têm sido encontrados na polpa e na casca da maçã, fornecem benefícios de ação antioxidante atuando

na redução de riscos de doenças (KROLOW, 2011; TSAU et al., 2005). Krolow (2011) relatou em sua pesquisa com maçãs na dieta e que o consumo diário da fruta inteira ou pó liofilizado tem reduzido os níveis de colesterol, estresse oxidativo e pressão arterial, aumentando a função cardíaca.

2.2 MELHORAMENTO GENÉTICO DE MACIEIRA

A produção brasileira de macieiras é composta por cultivares comerciais produtoras e polinizadoras, ambas melhoradas e selecionadas para atender ao mercado *in natura* (BONETI et al., 2002).

A EPAGRI (Empresa de Pesquisa Agropecuária e Extensão Rural de Santa Catarina S.A.) nas Estações Experimentais de Caçador e São Joaquim vêm desenvolvendo um programa de melhoramento genético. Os estudos visam obter novas cultivares as quais melhor se adaptam às condições climáticas, possuindo frutas mais coloridas e resistentes a doenças (VIEIRA, 2010).

No melhoramento genético de fruteiras de clima temperado, geralmente são utilizados os métodos tradicionais, onde os programas podem durar anos até que se produza uma cultivar geneticamente estável. A transformação genética proporciona a introdução de gene correspondente a alguma característica benéfica dentro do genoma de uma cultivar comercial estabelecida, proporcionando, desta forma, a aceleração do processo de melhoramento (SCHUCH e PETERS, 2002).

A macieira (*Malus* spp) é uma fruteira que pertence à família *Rosaceae*, subfamília *Pomoideae*, gênero *Malus*. *Malus x domestica* Borkh. (KORBAN, 1986). Nos últimos anos, outras espécies de *Malus* têm contribuído para introdução de genes em macieiras cultivadas, via hibridação sexual, por meio de cruzamentos controlados ou ao acaso (WAY et al., 1990).

Os programas de melhoramento genético em macieira buscam a obtenção de novas cultivares para ampliar a base genética e com média a baixa exigência em frio, que ao mesmo tempo, sejam polinizadoras compatíveis (DANTAS et al., 2005) e que possibilitem o desenvolvimento de frutas resistentes a pragas e doenças, adaptadas às condições edafoclimáticas brasileiras e com melhor qualidade nutricional (PETRI et al., 2011).

Como consequência do melhoramento genético, algumas vezes, é melhorada a qualidade nutricional e tecnológica das maçãs, mas essas maçãs desenvolvidas nem sempre são suficientemente avaliadas e testadas, particularmente em relação às suas propriedades nutracêuticas (CARBONE et al., 2011).

2.3 CAPACIDADE ANTIOXIDANTE EM ALIMENTOS

Os antioxidantes são substâncias que protegem os tecidos vivos contra os danos causados pelos radicais livres (MARTINS et al., 2013). Radical livre é qualquer espécie capaz de existir independente e que possui em um de seus orbitais atômicos ou moleculares um ou mais elétrons desemparelhados. Estas espécies geradas in vivo são altamente reativas e podem reagir com o DNA, RNA, proteínas, lipídios e outros elementos oxidáveis, causando danos que poderão contribuir para o envelhecimento e o aumento do risco de doenças crônicas não transmissíveis, como câncer, aterosclerose, artrite reumática, entre outras e para processos inflamatórios (RUFINO, 2008).

O combate ou a prevenção dos prejuízos causados pela ação dos radicais livres e/ou espécies reativas no organismo é realizado por meio de antioxidantes. Estas substâncias podem ser produzidas endogenamente ou fornecidas através da ingestão de frutas e hortaliças. O desequilíbrio entre o excesso na produção destas moléculas altamente reativas, e a velocidade de remoção pelo sistema de defesa antioxidante, caracteriza o estresse oxidativo (BERNAUD & FUNCHAL, 2011).

O estresse oxidativo é resultado do desequilíbrio entre as espécies reativas de oxigênio (ROS) e nitrogênio (RNS) geradas a partir de processos metabólicos normais e também de fatores externos, como poluição ambiental, tabagismo, radiação, drogas, entre outros (TERPINC et al., 2012). A ação antioxidante é realizada através de antioxidantes enzimáticos como superóxido desmutase, catalase e glutatona peroxidase, juntamente com antioxidantes não enzimáticos, como as vitaminas C e E, carotenóides, flavonóides e antioxidantes tióis, formam o sistema de defesa antioxidante (VALKO et al., 2006).

O teor de substâncias antioxidantes em um alimento consiste em sua capacidade antioxidante, portanto, é a sua capacidade de liberação de hidrogênio pelas substâncias antioxidantes, que por sua vez, reagem e eliminam a ação negativa das espécies ROS e RNS (RICE-EVANS et al., 1997; KAUR & KAPOOR, 2001). Na maçã, a capacidade antioxidante é atribuída, principalmente, aos compostos fenólicos, como os flavonoides e os ácidos fenólicos (EBERHARDT et al., 2000; LEE et al., 2003).

2.4 COMPOSTOS FENÓLICOS

Os frutos contêm, além dos nutrientes essenciais e de micronutrientes como minerais, fibras e vitaminas, diversos compostos secundários de natureza fenólica, denominados polifenóis (HARBONE & WILLIAMS, 2000) os quais estão presentes na casca e na polpa de frutas e vegetais (Nogueira et al., 2003). Os compostos fenólicos correspondem a moléculas muito distintas entre si que estão divididas, em função de suas estruturas químicas, em duas classes, os flavonóides e os não-flavonóides (SHAHIDI & NACZK, 1995). Quimicamente podem ser definidos como substâncias que possuem um anel aromático contendo um ou mais grupamentos hidroxilas (PIMENTEL et al., 2005).

Em alimentos, os compostos fenólicos são responsáveis pela cor, adstringência, aroma (PELEG et al., 1998) e estabilidade oxidativa (NACZK & SHAHIDI, 2004).

No que concerne à saúde humana, os compostos fenólicos presentes nas plantas, incluindo as antocianinas, flavan-3-óis, procianidinas, flavonóis e ácidos fenólicos, são os responsáveis, juntamente com os carotenóides e a vitamina C, pela diminuição do risco de várias doenças associadas com o estresse oxidativo (NOGUEIRA et al. 2005 e LEA et al., 2003).

Em maçãs, os compostos fenólicos estão presentes nos vacúolos (97%), sendo que, nas células do epicarpo, as suas concentrações são superiores àquelas encontradas nos tecidos internos da fruta (NICOLAS et al., 1994), e a sua composição pode ser característica de cada cultivar (PÉREZ-ILZARBE et al., 1991; AWAD et al., 2001).

A Figura 2 apresenta alguns dos principais polifenóis encontrados na maçã.

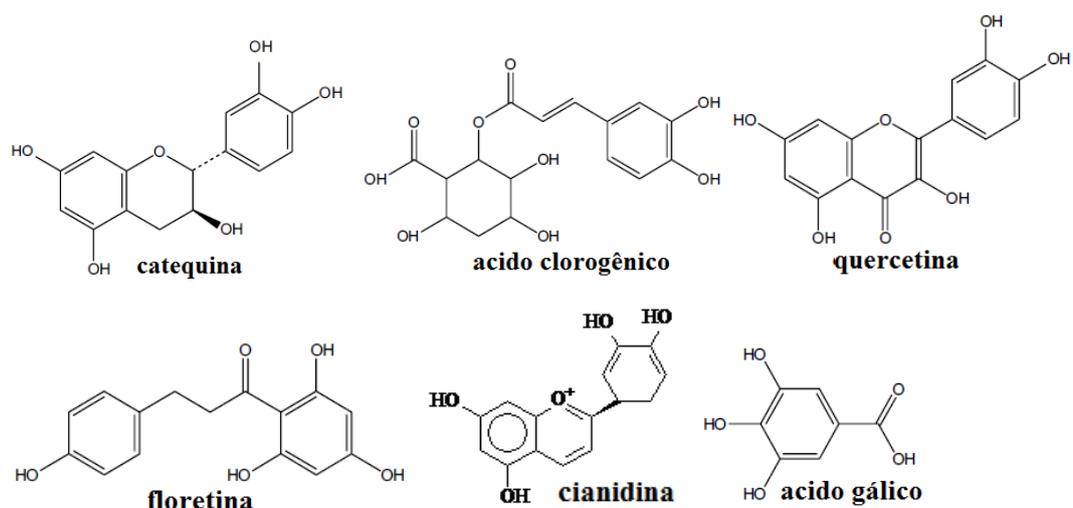


Figura 2 – Estrutura de compostos fenólicos comuns em maçã.

Fonte: Adaptado de Pimentel et al., 2005.

Estudos realizados por Kukoski et al., (2006) e Balasundram et al., (2006), mostram que a maçã possui 296 mg equivalente ácido gálico. 100 g⁻¹ do produto fresco, ameixa 143,5

mg equivalente catequina. 100 g⁻¹ do produto fresco e açaí 137 mg equivalente ácido gálico. 100 g⁻¹ da polpa congelada.

As antocianinas, chamada estruturalmente por cianidina 3-galactosídeo, é uma classe de compostos fenólicos e estão presentes em maior quantidade em cultivares de maçãs vermelhas ou parcialmente vermelhas sendo responsável pela coloração característica de suas cascas (TSAO et al., 2005; IGLESIAS et al., 2008). As antocianinas pertencem ao grupo dos flavonóides, grupo de pigmentos naturais com estruturas fenólicas variadas (NIJVELDT et al., 2001 e KUSKOSKI et al., 2004). São os componentes de muitas frutas vermelhas e hortaliças escuras, apresentando grande concentração nas cascas de uvas escuras (DOWNHAM e COLLINS, 2000). As antocianinas também possuem uma estrutura química adequada para a ação antioxidante, sendo capaz de doar elétrons ou átomos de hidrogênio para radicais livres (PRIOR, 2003).

O conteúdo de antocianinas constitui um importante parâmetro de qualidade de maçãs, devido à importância destes compostos em relação à cor dos frutos e de seus respectivos produtos (IGLESIAS et al., 2008).

2.5 POLIFENOLOXIDASE E O ESCURECIMENTO ENZIMÁTICO DE FRUTAS

Polifenoloxidase (PPO) consiste num grupo de enzimas que contêm átomos de cobre em sua estrutura química. Estão amplamente distribuídas entre as espécies de plantas e são responsáveis pelo escurecimento de tecidos vegetais por meio de sua ação que catalisa a oxidação dos polifenóis. Como resultado desta reação química, há a formação de melaninas que são substâncias coloridas ou também classificadas como pigmentos. A PPO situa-se nos plastídios das células, enquanto substratos fenólicos estão localizados nos vacúolos. A reação de escurecimento enzimático ocorre somente quando estes compartimentos são rompidos após o ferimento do tecido e por sua vez, as substâncias se misturam (QUEIROZ et al., 2011).

A reação oxidativa dos compostos fenólicos catalisada pela PPO causa a produção de polímeros de coloração marrom (melaninas) cujo mecanismo de ação desta enzima se situa em seu centro ativo, onde se encontram dois íons Cu¹⁺. Após a reação com o oxigênio do ar, ocorre a mudança de valência dos íons cobre (Cu¹⁺ / Cu²⁺) e provoca a formação de um complexo enzima-substrato, seguida da formação de o-difenol e após, o-quinona (Silva et al., 2009).

A Figura 3 ilustra a reação, as quinonas são compostos amarelados, instáveis e reativos que podem: reagir entre si formando polímeros com alta massa molecular de cor

escura, denominados melaninas; formar complexos com aminoácidos ou proteínas; e oxidar compostos com baixo potencial de oxidação (NICOLAS et al., 1994).

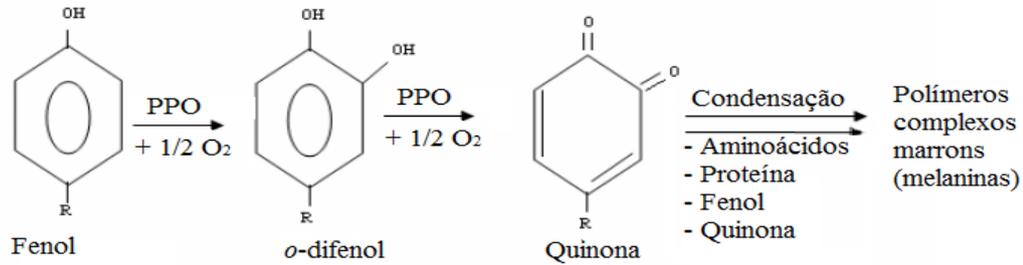


Figura 3 – Reação de oxidação de compostos fenólicos catalisado pela enzima Polifenoloxidase

Fonte: Adaptado de Nicolas et al., 1994.

2.6 MÉTODOS ANALÍTICOS PARA DETERMINAÇÃO DA CAPACIDADE ANTIOXIDANTE E COMPOSTOS FENÓLICOS TOTAIS

Para avaliar a capacidade antioxidante (CAT) dos componentes bioativos de maçã em eliminar os radicais livres, foi utilizado dois ensaios, um que consiste na formação do complexo TPTZ (2,4,6-Tris(2-piridil)-s-triazina com o Fe^{3+} de cor amarelada, onde na presença de uma substância antioxidante redutora presente na amostra e em meio ácido (pH 3,6), o complexo $[\text{Fe}(\text{TPTZ})_2]^{3+}$ recebe um elétron e é reduzido à forma $[\text{Fe}(\text{TPTZ})_2]^{2+}$, passando a apresentar intensa coloração azul com máximo de absorção em 593 nm. A Figura 4 ilustra a reação de redução do complexo TPTZ pelas substâncias antioxidantes presentes na amostra alimentícia (BENZIE & STRAIN, 1996; HUANG et al., 2005):

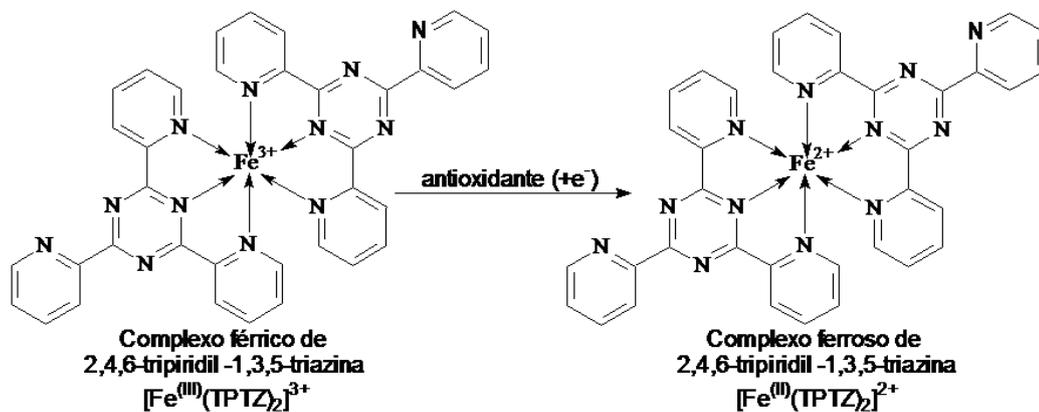


Figura 4 – Redução do complexo férrico $[\text{Fe}(\text{TPTZ})_2]^{3+}$ a ferroso $[\text{Fe}(\text{TPTZ})_2]^{2+}$ pela ação de antioxidante.

Fonte: Adaptado de Huang et al., 2005.

O outro ensaio utilizado foi o método DPPH que consiste em avaliar a atividade sequestradora do radical livre 2,2- difenil- 1-picril-hidrazila - DPPH•, de coloração púrpura que absorve a 517 nm. Por ação de um antioxidante ou uma espécie radicalar (R•), o DPPH• é reduzido formando difenil-picril-hidrazina, de coloração amarela, com consequente desaparecimento da absorção, podendo a mesma ser monitorada pelo decréscimo da absorbância. A partir dos resultados obtidos determina-se a quantidade sequestradora remanescente no meio reacional (SOUZA et al., 2007). A partir da reação descrita obtém-se a capacidade antioxidante da amostra analisada e o resultado é expresso em equivalente trolox ET. g⁻¹ de amostra seca. O reagente trolox é utilizado como substância padrão para a curva de calibração. A Figura 5 ilustra a reação da captura do radical livre presente no reagente DPPH pelos antioxidantes presentes na amostra alimentícia (PRIOR et al., 2005).

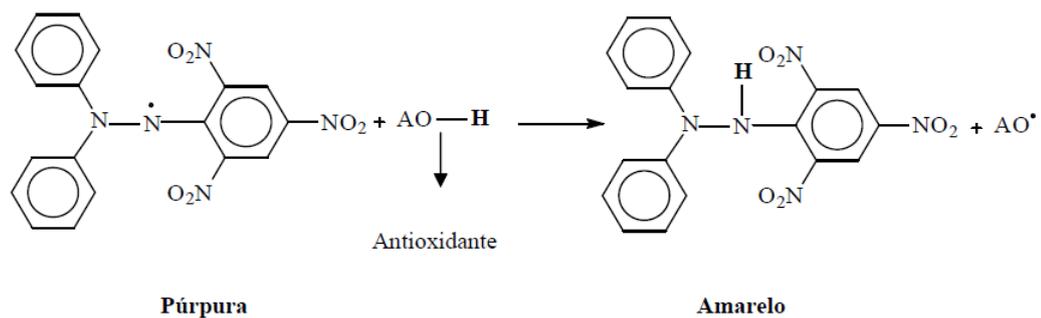


Figura 5 – Reação da captura do radical livre DPPH pelos antioxidantes presentes na amostra alimentícia.

Fonte: Adaptado de Prior et al., 2005.

A quantificação dos compostos fenólicos totais presente nas dez cultivares de maçãs foi realizado pelo ensaio que emprega o reagente de Folin-Ciocalteu, no qual se baseia na redução dos ácidos fosfotungstíco ($H_3PW_{12}O_{40}$) e fosfomolibdico ($H_3PMo_{12}O_{40}$) presentes no reagente de Folin-Ciocalteu, pelos fenólicos presentes na amostra a óxido de tungstênio (W_8O_{23}) e óxido de molibdênio (Mo_8O_{23}) em meio alcalino, conforme demonstra a Figura 6, (SINGLETON et al., 1999):

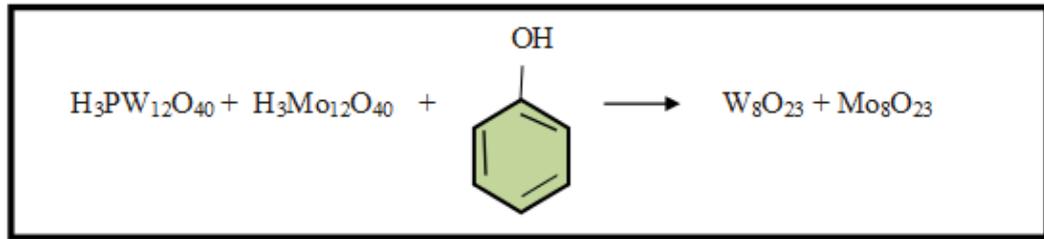


Figura 6 – Quantificação de compostos fenólicos totais pelo reagente de Folin- Ciocalteu.
Fonte: Adaptado de Singleton et al., (1999).

2.7 CORRELAÇÃO DE PEARSON

A correlação de Pearson mostra o grau de correlação linear entre duas variáveis qualitativas. O R é uma constante adimensional com valores que variam entre -1,0 a 1,0, mostrando a intensidade de relação entre os conjuntos de dados. Quanto mais próximo à unidade, maior será a correlação entre as variáveis. Valores próximos a zero mostram que as variáveis não dependem linearmente uma da outra. Os valores positivos significam uma correlação positiva e os valores negativos uma correlação negativa, este último, descreve que se uma variável aumenta a outra diminui.

2.8 LIOFILIZAÇÃO

A liofilização é uma técnica que resulta em produtos desidratados de alta qualidade devido à ausência de água líquida e à temperatura baixa necessária no processo que contribui para preservar componentes da matriz alimentícia, tal como vitaminas e minerais, assim como para reter o sabor e aroma originais, portanto, é uma técnica promissora para a desidratação de materiais termo- sensíveis (MARQUES et al., 2007). A técnica ocorre com vácuo a pressões muito baixas de modo que a operação é efetuada abaixo do ponto triplo da água (BUBNOVICH et al., 2012).

Um ciclo de liofilização tradicional consiste em três etapas, o congelamento, a secagem primária e a secagem secundária. Durante o passo de congelamento, a formulação líquida é arrefecida até que o gelo começa a formar e é seguido por crescimento do gelo. Isto resulta na separação da maior parte da água em cristais de gelo a partir de uma matriz de solutos vítreo e/ou cristalina. Durante a secagem primária, o gelo cristalino formado durante a congelamento é removido por sublimação. Portanto, a pressão da câmara é reduzida bem abaixo da pressão de vapor do gelo, e a temperatura da prateleira é aumentada para fornecer o calor

removido por sublimação do gelo. Após a conclusão da secagem primária, o produto pode ainda conter cerca de 15-20% de água descongelada, que é então desadsorvida durante a fase de secagem secundária, normalmente a uma temperatura elevada e baixa pressão, para finalmente permitir que o teor de umidade baixo desejado seja alcançado (KASPER et al., 2011).

Entre as técnicas de secagem disponíveis, tem havido um interesse crescente na liofilização que fornece produtos secos, de estrutura porosa, com propriedades vantajosas de qualidade, além disso, as baixas temperaturas utilizadas no processo contribuem para preservar constituintes como sais minerais, vitaminas, bem como para reter o sabor e aroma originais (MARQUES et al., 2009).

Neste estudo, optou-se pela liofilização como método de retirada da água para que todas as amostras apresentassem uma homogeneidade da matriz analisada sendo que cada cultivar de maçã apresenta uma quantidade de água diferente, além das vantagens do método já citadas no texto. A Figura 7 ilustra a casca e polpa respectivamente de maçã liofilizada após ser triturada.



Figura 7 – Casca e polpa de maçã liofilizada em pó.

Fonte: Arquivo pessoal (2014).

3 OBJETIVOS

3.1 OBJETIVO GERAL

Avaliar a correlação entre a capacidade antioxidante e escurecimento enzimático de novos cultivares de maçãs.

3.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Determinar a capacidade antioxidante, mediante os ensaios de DPPH e FRAP, e teor de fenólicos totais pelo método Folin-Ciocalteu.
- Determinar a atividade enzimática para a enzima polifenoloxidase, acidez total e parâmetros de cor para o escurecimento enzimático.
- Correlacionar os valores de capacidade antioxidante com as características enzimáticas das maçãs.
- Correlacionar os valores de capacidade antioxidante com teor de acidez.
- Correlacionar os valores do teor de acidez com parâmetros de cor.
- Correlacionar os valores de teor de acidez com atividade da polifenoloxidase.

4 MATERIAIS E MÉTODOS

4.1 REAGENTES E AMOSTRAS

Os reagentes TPTZ (2,4,6-tripiridil-S-triazina), radical DPPH, Folin-Ciocalteu, Ácido Gálico e Trolox, foram obtidos da Aldrich (Sigma-Aldrich Chemie, Steinheim, Germany). Os demais reagentes foram todos de grau analítico. De acordo com a Food and Drug Administration – FDA a acetona foi escolhida como solvente extrator porque é de grau alimentício, ambientalmente seguro e reconhecida na literatura para extração de compostos antioxidantes de matrizes alimentares (WIJNGAARD & BRUNTON, 2010).

Dez cultivares de maçãs, das quais sete são frutas obtidas por melhoramento genético a partir da Estação Experimental dos Assuntos Rurais e Instituto de Pesquisa Agrícola de Santa Catarina (EPAGRI) em Caçador, Santa Catarina, Brasil (Latitude 26° 49' 9,56" Sul; Longitude: 50° 59' 6.77" Oeste; Altitude média 960 m.). As cultivares melhoradas geneticamente foram denominados como: Epagri-170/25, Epagri-170/40, Epagri-170/65, Epagri-170/91, Epagri- M11/00, Epagri-M3/02 e Epagri-M15/07. As cultivares comerciais foram: Daiane (cultivar desenvolvida na Epagri/Caçador: cruzamento de Gala x Princesa), Monalisa (cultivar desenvolvida na Epagri/Caçador: cruzamento de Gala x Malus) e Jazz (Origem: Nova Zelândia).

4.2 DELINEAMENTO EXPERIMENTAL

A Figura 8 ilustra o delineamento experimental utilizado na pesquisa.

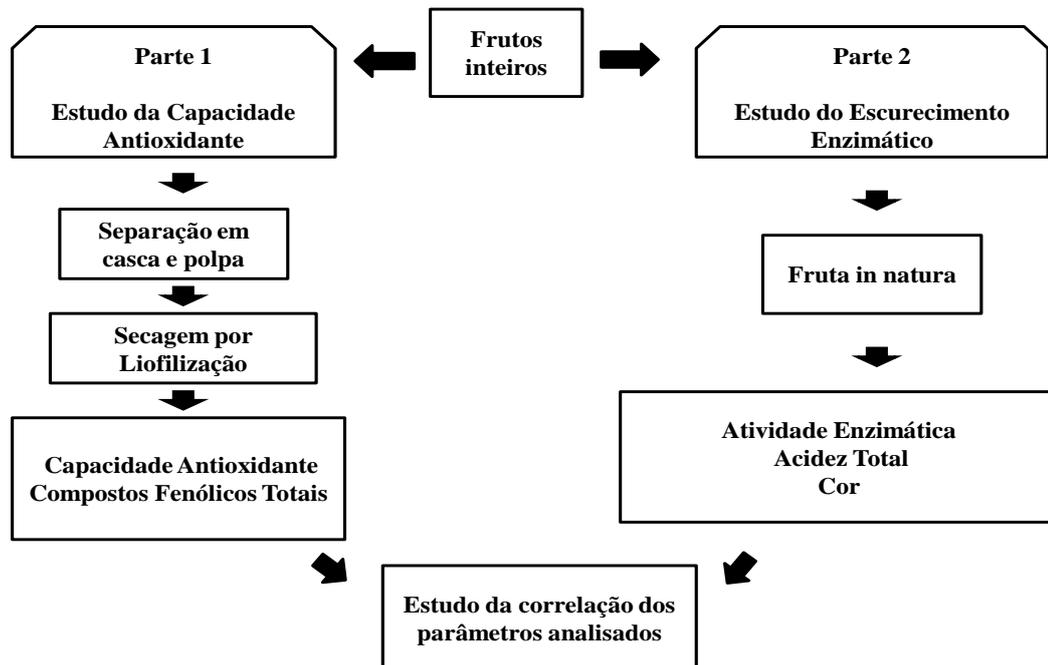


Figura 8 – Delineamento experimental.

4.3 PREPARO DAS AMOSTRAS

As maçãs foram lavadas em água corrente, secas com papel toalha e separadas em duas partes para cada cultivar. Uma parte foi mantidas inteiras e embaladas a vácuo em Sulpach Supervac 300. A outra parte foi separada a partir de um processo manual em casca e polpa e liofilizada em Liofilizador Christ, Alpha 1-2 LD plus por um período de 48 horas para certificar que todo conteúdo aquoso tenha sido retirado. Com este procedimento, obtiveram-se amostras similares em termos de conteúdo aquoso. As amostras liofilizadas foram então trituradas manualmente com martelo obtendo-se um pó fino e em seguida, embaladas a vácuo individualmente (polpa e casca para cada cultivar) e foram então congeladas até o momento da análise.

4.4 OBTENÇÃO DOS EXTRATOS DE POLPAS E CASCAS DAS MAÇÃS PARA ANÁLISES DA ATIVIDADE ANTIOXIDANTE

Os extratos foram obtidos, utilizando $2,500 \text{ g} \pm 0,001 \text{ g}$ de maçã liofilizada (casca e polpa separadamente) com 25,0 mL de acetona-água (80:20 v/v). As misturas foram

colocadas em recipientes de vidro, vedando-se a borda com filme plástico de PVC e cobrindo-se com papel alumínio. Em seguida, os frascos foram então submetidos à agitação magnética por 1 hora e os extratos transferidos para balões volumétricos tendo o volume de 50 mL completados com solvente acetona 80%. Posteriormente, os extratos foram centrifugados durante 10 minutos a 6535 g e os sobrenadantes foram recolhidos e estocados a -18°C para posterior análise.

4.5 DETERMINAÇÃO DA CAPACIDADE ANTIOXIDANTE PELO ENSAIO FRAP (FERRIC REDUCING ABILITY POWER)

Capacidade Antioxidante foi determinada pelo ensaio FRAP (Ferric Reducing Ability Power). O ensaio do poder antioxidante de redução férrica (FRAP) foi realizado de acordo com Benzie & Strain (1996). Inicialmente, o reagente FRAP foi preparado adicionando-se na proporção de 10:1:1 (v/v/v), solução Tampão Acetato ($300,0 \text{ mmol L}^{-1}$, pH 3,6), solução de tripiridiltriazina-TPTZ ($10,0 \text{ mmol L}^{-1}$ em $1,0 \text{ mol L}^{-1}$ de HCl) e solução de FeCl_3 ($20,0 \text{ mmol L}^{-1}$), respectivamente. Esta solução foi mantida no escuro e em banho-maria a 37°C . Para o branco da análise, adicionou-se 3,0 mL do reagente FRAP recém-preparado com 400 μL de água destilada, seguido da leitura da absorbância a 593 nm, usando um espectrofotômetro modelo *Genesys 10 uv*, marca *Thermo Scientific, Madison, USA*. Em seguida, para a análise das amostras, adicionou-se 100 μL da solução extrato das amostras num tubo de ensaio, com 300 μL de água destilada e 3,0 mL do reagente FRAP. Essa mistura foi homogeneizada e incubada a 37°C por 30 minutos ao abrigo da luz e em seguida foi feita a leitura da absorbância. Soluções aquosas de padrão $\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ foram usadas na curva de calibração. Os resultados foram expressos em $\text{mmol Fe}^{2+} \cdot 100 \text{ g}^{-1}$ de amostra seca.

4.6 CAPACIDADE ANTIOXIDANTE DETERMINADA PELO ENSAIO DO RADICAL DPPH

O método envolvendo a captura do radical livre DPPH (2,2-difenil-1-picrilidrazil) foi realizado de acordo com Brand-Williams e Cuvelier (1995), com modificações (XIAOWEI et al., 2011). A solução do reagente DPPH foi preparada a partir da adição de 12,00 mg de reagente DPPH em um balão volumétrico de 500,00 mL e completando-se o volume com metanol ao abrigo da luz. Uma alíquota de 25 μL de solução do extrato foi misturada com 2,00 mL de uma solução metanólica de DPPH* $6,25 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$. A mistura foi mantida no

escuro por 30 min e em seguida a absorbância foi obtida a 517 nm (espectrofotômetro modelo *Genesys 10 uv -Thermo Scientific, Madison, USA*). Soluções metanólicas de Trolox (ácido (±)-6-hidroxi-2,5,7,8-tetrametilcromano-2-carboxílico) foram utilizadas para construir a curva de calibração. Os resultados foram expressos em mmol de Equivalente Trolox (ET). 100 g⁻¹ de amostra seca.

4.7 DETERMINAÇÃO DO TEOR DE COMPOSTOS FENÓLICOS TOTAIS (FT)

O teor de compostos fenólicos foi determinado de acordo com metodologia descrita por Singleton & Rossi (1965), utilizando o reagente Folin-Ciocalteu. Em tubo de ensaio foi adicionado 250 µL do extrato, seguido de 250 µL do reagente Folin-Ciocalteu (diluído 1:1 em água destilada), 500 µL de uma solução saturada de Na₂CO₃ e 4,0 mL de água destilada. A solução foi incubada no escuro por 25 min, centrifugada por 10 min e a absorbância foi medida a 725 nm contra o branco (espectrofotômetro modelo *Genesys 10 uv-Thermo Scientific, Madison, USA*). O teor de compostos fenólicos totais foi determinado através das curvas de calibração com ácido gálico e expresso como g de equivalente ácido gálico (EAG). 100 g⁻¹ de amostra seca.

4.8 TEOR DE ANTOCIANINAS

O teor de antocianinas (TAC) foi determinado pelo método do pH diferencial (LI et al., 2012). Uma alíquota de 0,5 mL de extrato das amostras foram diluídos em 5,0 mL de uma solução de cloreto de potássio 25,00 mmol L⁻¹ (pH 1,0) e 5,00 mL de solução tampão acetato de sódio 0,4 mol L⁻¹ (pH 4,5), após 15 min de incubação a 23 °C foram feitas as leituras das absorbâncias das soluções resultantes em espectrofotômetro em comprimento de onda da luz de 510 e 700 nm. O teor de antocianinas das amostras foi expresso em mg cianidin3-glicosídeo por 100 g de amostra seca. A Absorbância foi calculada através da Equação 1:

$$A = (A_{510} - A_{700})_{pH1,0} - (A_{510} - A_{700})_{pH4,5} \quad (1)$$

O teor de antocianinas das amostras (mg cianidin3-glicosídeo por 100 g de amostra seca) foi calculada com a Equação 2:

$$TAC = \frac{A \times M \times DF \times 100}{\varepsilon} \quad (2)$$

Onde A é a absorvância, M é a massa molecular (449,2), DF é o fator de diluição (51) e ε é a absorvidade molar da cianidin3-glucosídeo (26.900).

4.9 TEOR DE ÁCIDO ASCÓRBICO (VITAMINA C)

O ensaio de determinação do teor de vitamina C, método titulométrico com o reagente 2,6-diclorofenolindofenol foi descrito pelo (Association of Official Analytical Chemists, (1997). Foi aplicado nas polpas das maçãs *in natura*. Brevemente, 15,0 g da amostra fresca, previamente homogeneizada, foram misturadas com 50,0 ml de ácido oxálico 1%. A mistura foi homogeneizada e titulada com solução 0,02% de ácido 2,6-diclorofenolindofenol (DCFI). O ponto final foi considerado quando a solução obteve uma coloração rosa persistente por 15 s. A calibração da solução de 2,6-diclorofenolindofenol foi realizada com uma solução de ácido ascórbico 0,01% (10,0 mL de ácido ascórbico 0,01% + 50,0 mL de ácido oxálico 1%). Três extrações independentes foram realizadas para cada amostra e para o ácido ascórbico. Os resultados foram expressos em miligramas de ácido ascórbico por 100 g amostra úmida (mg AA.100 g⁻¹ amostra).

Para o cálculo da quantidade de AA presente na amostra, foi aplicada a Equação 3:

$$C = \frac{V \times f \times 100}{m} \quad (3)$$

Sendo que f foi obtido pela Equação 4:

$$f = \frac{10 \times c}{p} \quad (4)$$

Onde “C” é a quantidade de AA (mg) presente em 100 g de amostra, “V” é o volume (mL) de indicador – DCFI utilizado na titulação da amostra e “m” é a quantidade de amostra (g) utilizada na extração. “p” é o volume (mL) gasto de indicador – DCFI que reage com 10 mL de uma solução padrão de AA cuja concentração é “c” (mg. mL⁻¹).

4.10 ESTUDO DO ESCURECIMENTO ENZIMÁTICO

4.10.1 Obtenção do Extrato Enzimático da Polpa

O extrato enzimático foi obtido de acordo com Hyun & Deog (2011). Uma quantidade de $25,00 \pm 0,01$ g de amostra fresca foi macerada com 50,0 mL de tampão fosfato 50,00 mM, pH 5,0 e resfriado a temperatura de 4°C e 2,50 g de polivonilpirrolidone (PVP) por 2 minutos. Em seguida, a mistura foi filtrada, e o filtrado por sua vez centrifugado a 6535 g por 30 minutos a 4°C. Os extratos foram imediatamente analisados para verificar a atividade da enzima polifenoloxidase (PPO).

4.10.2 Atividade da Polifenoloxidase (APPO)

A APPO foi determinada de acordo com Gawlik-Dziki et al., (2007). Inicialmente o reagente catecol foi preparado na concentração $10,00 \text{ mmol L}^{-1}$ em tampão fosfato pH 5,0. Em seguida, foi adicionado em uma cubeta de vidro, 2,95 mL da solução de Catecol, recém-preparada e 0,05 mL de extrato enzimático, seguido de leitura de absorvância à comprimento de onda da luz de 420 nm em espectrofotômetro UV/VIS *Modelo T80+*, *marca PG Instrument, USA*, no tempo zero e após 10 minutos. Foi utilizado como branco a mistura de todos os reagentes, substituindo o extrato enzimático pelo Tampão Fosfato pH 5,0. Para o cálculo da atividade enzimática, foi utilizado a Equação 5. Uma unidade de atividade da polifenoloxidase (U) foi definida como o aumento de 0,001 na absorvância por minuto por g de amostra (U. (min.g)^{-1}).

$$\text{Atividade (U. (min.g)}^{-1}) = \frac{(\text{AF}_{\text{amostra}} - \text{AI}_{\text{amostra}}) - (\text{AF}_{\text{branco}} - \text{AI}_{\text{branco}})}{0,001 \times t} \quad (5)$$

Onde $\text{AF}_{\text{amostra}}$ é a absorvância final da amostra, $\text{AI}_{\text{amostra}}$ é a absorvância inicial da amostra, $\text{AF}_{\text{branco}}$ é a absorvância final do branco, $\text{AI}_{\text{branco}}$ é a absorvância inicial do branco, 0,001 é fixo e corresponde ao valor considerado para a medida do aumento da absorvância e t é o tempo de análise em minutos.

4.10.3 Análise da Cor e % Escurecimento Enzimático

As medidas de cor foram realizadas em Colorímetro MiniScan EZ HunterLab, USA, série MSEZ0231, dispositivo por reflectância. Foi utilizado o sistema de cor CIELAB, com iluminante D65 e calibração do tipo TTRAN. Os parâmetros de imagem foram obtidos colocando o dispositivo coletor de imagem do colorímetro paralelo e sobre a superfície da amostra (fatia de maçã). As amostras foram analisadas em quadruplicata. As fatias de maçã foram acondicionadas em placas de petri e colocadas num reator composto por uma caixa preta contendo uma lâmpada fluorescente, conforme a figura 9. Os parâmetros de cor da superfície das maçãs foram obtidos imediatamente após o corte das fatias e após 12 horas de exposição à lâmpada fluorescente do reator e em temperatura controlada a 17 °C. Para as medidas de cor, foram determinados os parâmetros: L* - Luminosidade, que varia de 0 (preto) a 100 (branco); a* - cromaticidade, que varia de +a* (vermelho) a -a*(verde); e b* - cromaticidade, que varia de +b* (amarelo) a -b* (azul). O valor de L* é um indicador útil de escurecimento durante o armazenamento, resultante de reações de escurecimento oxidativa ou do aumento da concentração de pigmentos, Quevedo et al., 2009; Ibarz et al., 1999 e Haminiuk et al., 2005. A partir do parâmetro L* foi calculada a porcentagem de escurecimento (% E) utilizando a Equação 6:

$$\% E = 100 - \left(\frac{L_f^* \times 100}{L_i^*} \right) \quad (6)$$

Onde, L_i* é o parâmetro L* imediatamente após o corte das fatias e L_f* é o parâmetro L* após 12 horas de permanência dentro do reator.

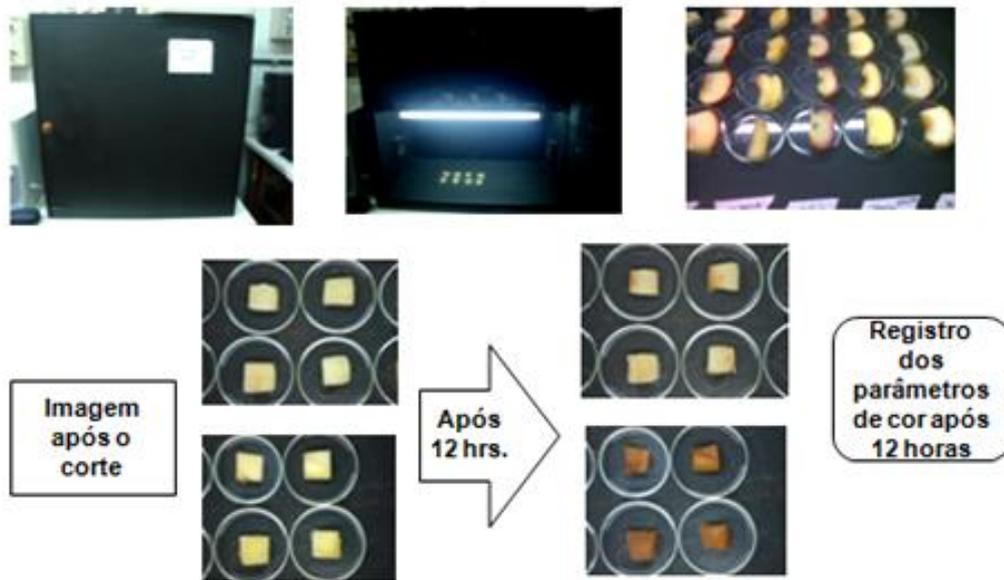


Figura 9 – Imagem externa e interna do reator utilizado para análise do escurecimento enzimático e demonstração de procedimento experimental de coleta de dados para este estudo.

Fonte: Arquivo pessoal (2012).

4.10.4 Acidez Total Titulável (ATT)

A determinação da acidez total titulável foi realizada de acordo com a metodologia descrita pelo Instituto de Tecnologia de Alimentos – ITAL (1990). Foram triturados $10,00 \pm 0,01$ g de amostra com água destilada por 2 minutos. A solução foi transferida para um balão volumétrico de 100,00 mL e o volume completado com água destilada até marca de aferição. Essa solução foi titulada com solução $0,10 \text{ mol. L}^{-1}$ de NaOH, utilizando como indicador a fenolftaleína. Para auxiliar a análise, foi utilizado um pH metro (*Tecnopon, modelo mPA210, versão 7.1*) para atingir o ponto de viragem até que o pH alcançasse o valor de 8,3. Para o cálculo do resultado, foi utilizado a Equação 7:

$$ATT_{(\text{g ácido málico}/100\text{g})} = \frac{V_{\text{NaOH}} \times M \times \text{eq. g} \times 100}{\text{g amostra} \times 1000} \quad (7)$$

Onde ATT é acidez total titulável, *eq. g* é o número de equivalente grama do ácido málico (67) e V_{NaOH} é o volume gasto na titulação de NaOH, M é a molaridade da solução de NaOH = $0,1 \text{ mol. L}^{-1}$.

O resultado de ATT para maçãs foi expresso em g de ácido málico. 100 g^{-1} amostra úmida.

5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

Todos os dados foram apresentados como média \pm desvio padrão (DP) de três repetições e analisados utilizando o Software *STATISTICA 8.0* (Statsoft, EUA). As diferenças entre as médias foram estabelecidas utilizando a análise de variância (ANOVA) seguida pelo teste de Tukey. Para as correlações, coeficientes de Pearson foram obtidos. Diferenças no nível de 5% ($p < 0,05$) foram consideradas estatisticamente significativas.

5.1 CAPACIDADE ANTIOXIDANTE DE POLPA E CASCA

5.1.1 Capacidade Antioxidante (CAT) pelo ensaio FRAP e DPPH

Os valores encontrados para CAT pelos ensaios FRAP e DPPH dos extratos de casca e polpa de dez cultivares de maçãs. De acordo com a Figura 10 e 11 (Anexo 3), as cascas apresentaram valores de CAT maiores do que polpas para todas as cultivares. Este resultado está de acordo com o esperado, pois na epiderme da fruta está presente os corantes naturais que agem como antioxidantes. Pode ser observada uma grande variabilidade em relação à CAT medida pelos dois métodos assim como entre os cultivares ($p < 0,05$). Isto se deve a variabilidade das cultivares analisadas. Similares diferenças genótípicas foram também observadas em maçãs e morangos por Scalzo et al., (2005) e Carbone et al., (2011).

As cascas apresentaram valores de CAT entre 7,1 a 92,2 mmol ET.100 g⁻¹ para ensaio DPPH e 16,1 a 49,6 mmol Fe⁺².100 g⁻¹ pelo FRAP. Cascas de Epagri-170/91, Epagri-170/25 e Epagri-M3/02 apresentaram os maiores valores de CAT obtidas pelos dois ensaios. O menor valor encontrado de CAT para cascas foi observado para a amostra Epagri-M11/00 em ambos os métodos (FRAP e DPPH).

As polpas apresentaram valores de CAT entre 1,3 a 5,1 mmol ET. 100 g⁻¹ obtidos pelo ensaio DPPH e 4,3 a 8,6 mmol Fe⁺². 100 g⁻¹ obtidos pelo FRAP. A polpa de Epagri-170/91, Epagri-170/25 e Epagri-M3/02 também apresentaram os maiores CAT obtidas pelos dois ensaios. Portanto, pode ser observado que estas cultivares se destacaram em relação às outras por apresentarem as maiores CAT em polpa e casca para os dois ensaios utilizados.

Os valores de CAT para cascas das dez cultivares foram em média 10,1 vezes maior para o ensaio de DPPH e 5,3 vezes maior para o ensaio FRAP em comparação às polpas. Os resultados estão de acordo com Drogoudi et al., (2008) os quais mostraram a CAT das cascas de maçãs maiores do que as polpas. As diferenças observadas em relação aos resultados

obtidos do presente estudo entre as amostras analisadas podem ser atribuídas ao período de crescimento, localização geográfica da amostra, métodos de extração utilizados e a variação da cultivar, sendo que os melhores valores foram observados em amostras melhoradas geneticamente.

Capacidade antioxidante de cascas de maçãs

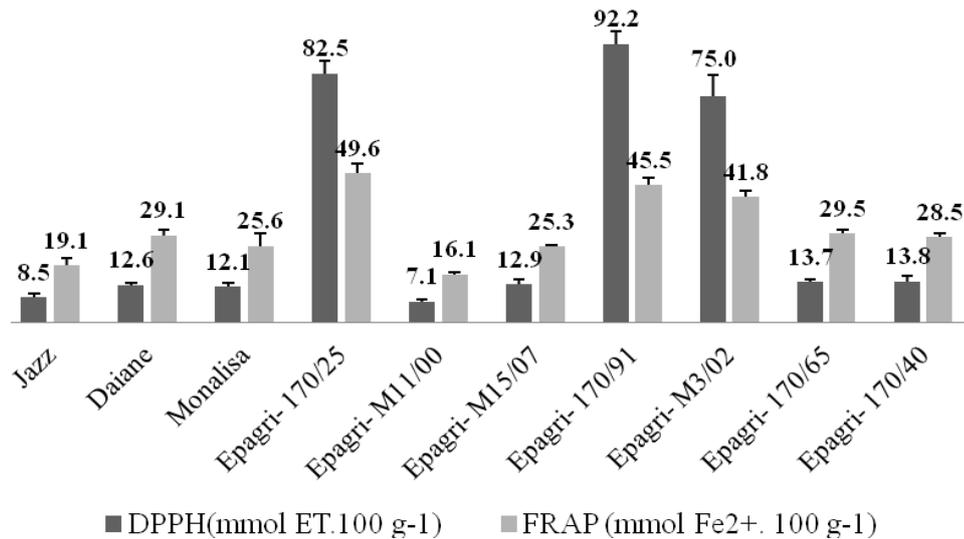


Figura 10 – Resultado da Capacidade Antioxidante obtida pelos ensaios de DPPH* (mmol ET.100 g⁻¹) e FRAP (mmol Fe²⁺. 100 g⁻¹) de *cascas* de dez cultivares de maçãs, expressos em base seca (BS). ET - Equivalente Trólox. Valores representados como valor médio ± desvio padrão da triplicata.

Capacidade antioxidante de polpas

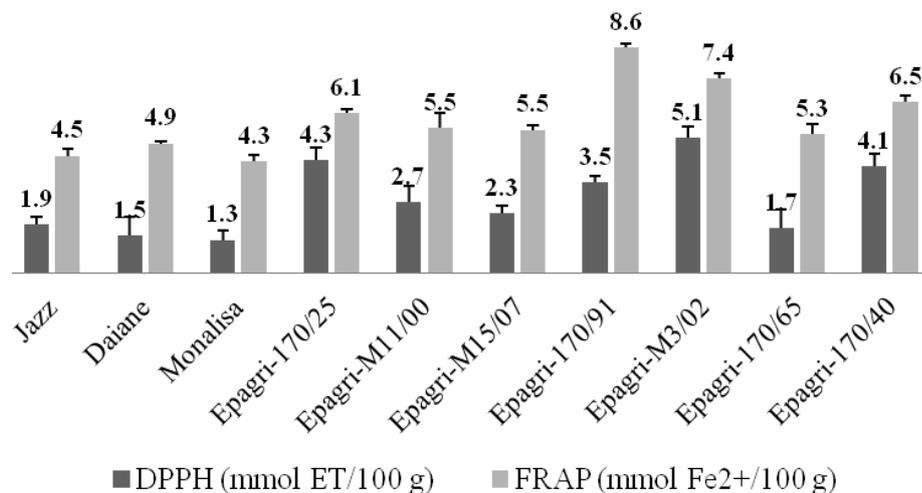


Figura 11 – Resultado da Capacidade Antioxidante obtida pelos ensaios de DPPH* (mmol ET. 100 g⁻¹) e FRAP (mmol Fe²⁺. 100 g⁻¹) de *polpas* de dez cultivares de maçãs, expressos em base seca (BS). ET - Equivalente Trólox. Valores representados como valor médio ± desvio padrão da triplicata.

5.1.2 Teores de Compostos Fenólicos Totais (FT)

As quantidades de FT analisados nas dez cultivares de maçãs são mostradas na Figura 12 (Anexo 4). Na análise das polpas, as cultivares com maiores teores de FT foram a Epagri-170/91 e Epagri-M3/02. A variação total de FT foi de 0,40 a 0,67 g EAG. 100 g⁻¹ de amostra seca. Já para análise das cascas as cultivares que apresentaram as maiores quantidades de FT foram Epagri- 170/91 > Epagri-170/25 > Epagri-M3/02. Nas cascas os valores medidos variaram de 1,09 a 3,74 g EAG. 100 g⁻¹ de amostra seca. A menor quantidade de FT para polpa e casca foi observada para a cultivar Epagri-M11/00. Por outro lado, a cultivar que apresentou os melhores valores tanto para casca quanto para polpa foi a Epagri- 170/91. Estes resultados estão de acordo com os valores obtidos para determinação da CAT em Mari et al., (2010), em estudo com maçãs liofilizadas, encontraram para a cultivar Annurca, 0,146 g EAG. 100 g⁻¹ e para Red Delicious, 0,124 g EAG. 100 g⁻¹ amostras base seca, confirmando novamente os altos valores obtidos para estas cultivares analisadas neste estudo. Os teores de compostos fenólicos nas cascas das cultivares foram em média 4,6 vezes maiores em relação aos teores obtidos nas polpas. Estes resultados estão de acordo com estudos relatados na literatura sobre vários cultivares de maçãs, os quais mostram que a casca é a porção da fruta que contém o maior conteúdo bioativo. (KHANIZADEH et al., 2008; LECCESE et al., 2009; VIEIRA et al., 2009b).

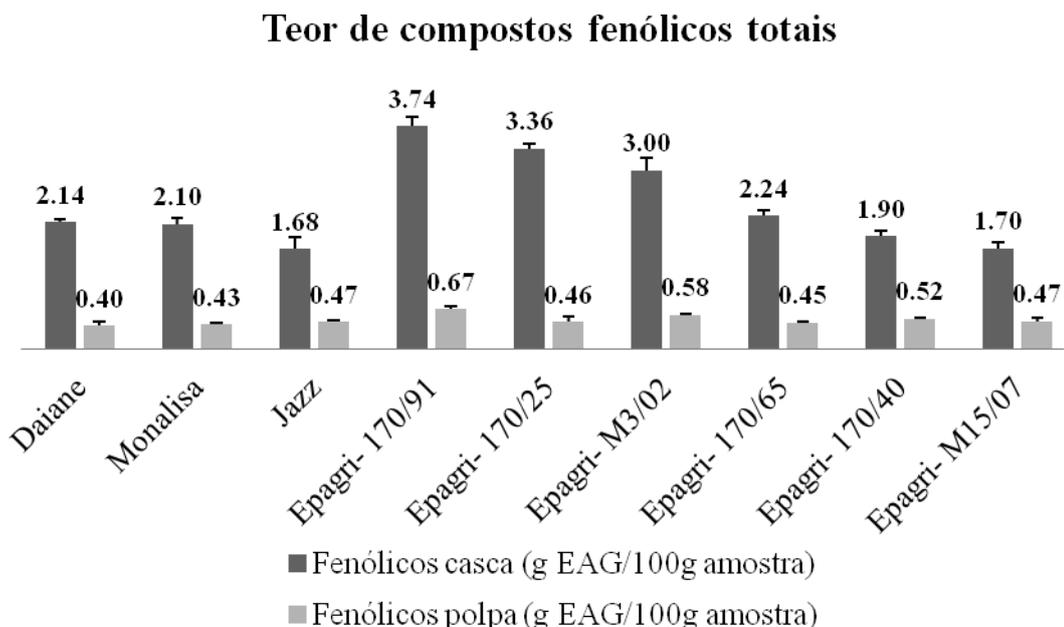


Figura 12 – Teor de compostos fenólicos (FT em g EAG. 100 g⁻¹) em polpas e cascas de dez cultivares de maçãs expressos em base seca (BS). EAG - Equivalente Ácido Gálico. Valores representados como valor médio ± desvio padrão da triplicata.

5.1.3 Teor de Antocianinas (TAC)

A Figura 13 (Anexo 5) mostra os resultados da análise do teor de antocianinas (TAC) nas cascas das dez cultivares de maçãs analisadas. A amostra Epagri-M3/02 apresentou o maior TAC, seguido por Epagri-170/25 > Epagri-170/65 > Epagri-170/91, estas amostras apresentaram uma característica em comum que é a maior intensidade de cor vermelha nas cascas em comparação as demais cultivares. Os dados obtidos no presente estudo foram maiores quando comparados a outros trabalhos, os quais trabalharam com maçãs (ZARDO et al., 2009 e Vieira et al., 2011). Os resultados das cultivares com maiores teores de antocianinas foram superiores aos obtidos por Mari et al., (2010), que para as cascas de maçãs liofilizadas estes foram 23,7 mg cy-3-gal. 100 g⁻¹ para a cultivar Annurca e 7,72 mg cy-3-gal. 100 g⁻¹ para Red Delicious.

Os maiores valores obtidos para TAC obtidos aqui podem estar relacionados ao fato que as análises foram realizadas em base seca. A retirada da água da amostra a partir do processo de liofilização constitui em um método de concentração da matriz analítica. Além disso, a diferença entre valores de TAC nas amostras de casca de maçã é muitas vezes atribuída a cultivar da maçã e da combinação de fatores climáticos durante o seu cultivar. (WOJDYLO et al., 2008). Uma vez que todas as dez variedades de maçãs analisadas neste estudo foram cultivadas no mesmo local usando práticas hortícolas similares, a variação nos teores de antocianinas demonstra que a cultivar conduziu a diferenças na biossíntese.

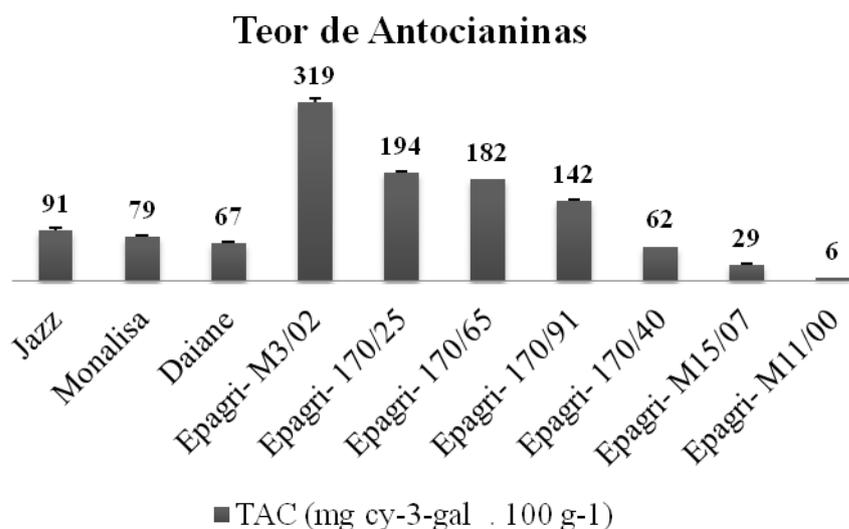


Figura 13 – Teor de antocianinas (TAC em mg cy-3-gal. 100 g⁻¹) em cascas de 10 cultivares de maçãs expressos em base seca (BS). cy-3-gal - cianidin3-glucosídeo. Valores representados como valor médio ± desvio padrão da triplicata.

5.1.4 Teor de Ácido Ascórbico

A Figura 14 (Anexo 6) mostra os resultados da análise de ácido ascórbico (vitamina C) nas polpas das dez cultivares de maçãs. A amostra que se destacou com o maior teor de vitamina C foi Epagri-170/25 com 7,8 mg AA. 100 g⁻¹ amostra *in natura*, seguida por Epagri-170/91 com 4,5 mg AA. 100 g⁻¹ amostra *in natura*. Estes valores estão de acordo com estudos realizados em maçãs por Feliciano et al., (2010), nos quais obtiveram os seguintes valores de ácido ascórbico para variedades consumidas em Portugal; Bravo de Esmolfe (2,20 mg AA. 100 g⁻¹), Ouro (6,0 mg AA. 100 g⁻¹) e Starking (5,0 mg AA. 100 g⁻¹) e também estão de acordo com Eberhardt et al., (2000) que relatam que menos de 0,4% da capacidade antioxidante de maçãs é atribuído ao teor de ácido ascórbico, sendo que os valores de vitamina C obtidos em maçãs são inferiores a outras frutas tais como: maracujá, limão, goiaba em Suntornsuk et al., (2002) e umbu-cajá em Lima et al., (2003).

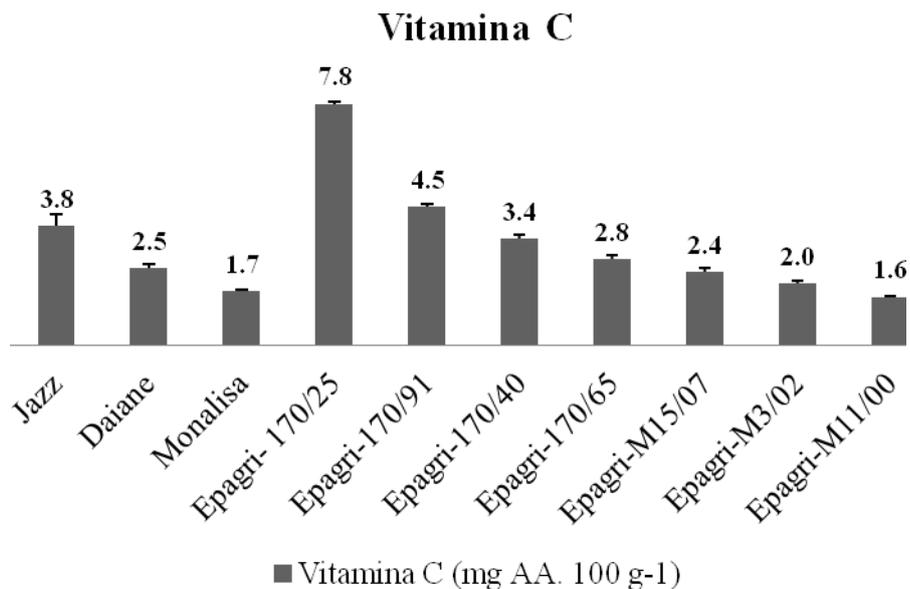


Figura 14 – Teor de vitamina C (mg AA. 100 g⁻¹ amostra *in natura*) em polpas e cascas de dez cultivares de maçãs expressos em base úmida (BU). AA - ácido ascórbico. Valores representados como valor médio ± desvio padrão da triplicata.

5.2 ESTUDO DA ATIVIDADE ENZIMÁTICA EM POLPAS

5.2.1 Atividade Enzimática da Polifenoloxidase (APPO)

A Figura 15 (Anexo 7) mostra os valores da APPO dos extratos enzimáticos das polpas de dez cultivares de maçãs. De acordo com os resultados, pode ser observado que os

maiores valores de APPO foram encontrados para as cultivares Monalisa, Epagri-M11/00 e Daiane. Já os menores valores da APPO em ordem decrescente foram obtidos para as cultivares Epagri-170/91 < Epagri-170/40 < Epagri-170/25 e Epagri M3/02. Amostras com baixa APPO, não apresentam formação de pigmentos escuros após exposição ao oxigênio do ar por determinado período de tempo, por não haver catálise da reação de oxidação de compostos fenólicos pela polifenoloxidase.

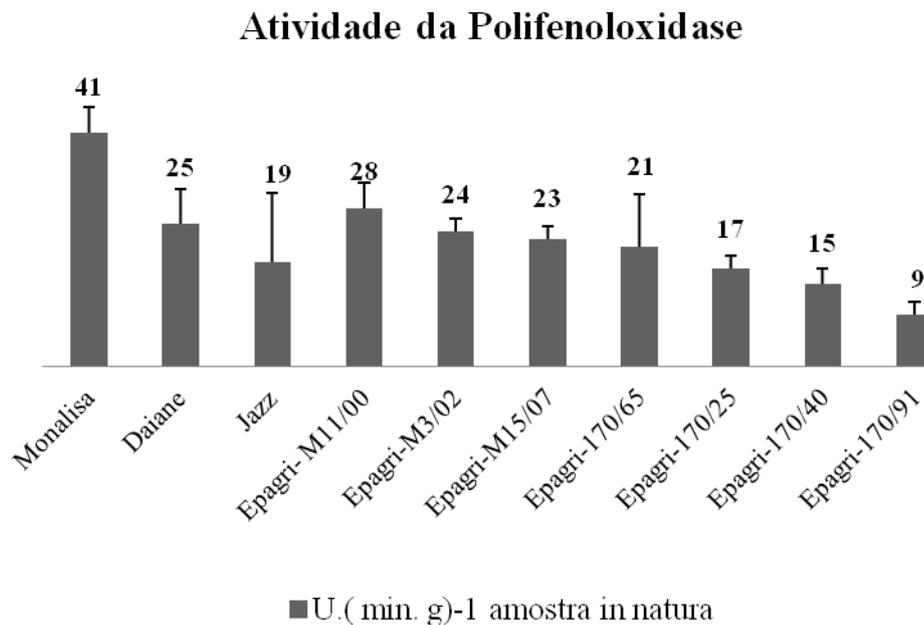


Figura 15 – Atividade enzimática polifenoloxidase - U. (min. g)⁻¹ de polpas *in natura* de dez cultivares de maçãs. Os resultados foram expressos em base úmida (BU). Valores representados como valor médio \pm desvio padrão da triplicata.

5.2.2 Análise da cor e % Escurecimento Enzimático

Os parâmetros foram registrados após o corte das fatias e depois de 12 horas de exposição ao oxigênio do ar dentro do reator. Em Anexo 8, estão os resultados dos parâmetros a^* , b^* e L^* coletados. De acordo com Haminiuk et al., (2005), o parâmetro de cor L^* é um indicador útil de escurecimento durante o armazenamento, resultante de reações de escurecimento oxidativo e do aumento da concentração de pigmentos, este parâmetro é analisado pelo valor do módulo de ΔL^* . A Figura 16 mostra os resultados do parâmetro de cor L^* _{inicial} e L^* _{final} para cada amostra.

A Figura 17 mostra o resultado de % E para as dez cultivares de maçãs estudadas. As % E foram obtidas em relação ao parâmetro ΔL^* . Os valores de % E foram expressos como a

média de quatro replicata, sendo que maiores % E indicaram cultivares que escureceram muito após um período de 12 horas. Esses resultados estão de acordo com os encontrados por Beveridge & Weintraub (1995), os quais realizaram um estudo da cultivar de maçã Red Delicious, obtendo 22,3 de ΔL^* , correspondendo a 29 % E, indicando ser uma cultivar que escurece enzimaticamente pela ação da enzima.

Os resultados deste estudo mostram que cultivares que apresentaram os menores valores de APPO também apresentaram menores ΔL^* e % E.

A Figura 18 (a e b) mostram os resultados dos parâmetros a^* e b^* , respectivamente. Estes parâmetros indicam uma tendência à coloração vermelho/verde em a^* e amarelo/azul em b^* das maçãs após 12 horas de exposição ao oxigênio do ar, mas não é utilizado para avaliação do escurecimento enzimático. Na Figura 18 (a), pôde-se observar grande tendência à cor verde após 12 horas de reação, exceto a amostra Epagri-170/25 na qual tendeu à cor vermelha. Na Figura 18 (b), pode observar que as amostras tenderam ao azul após 12 horas.

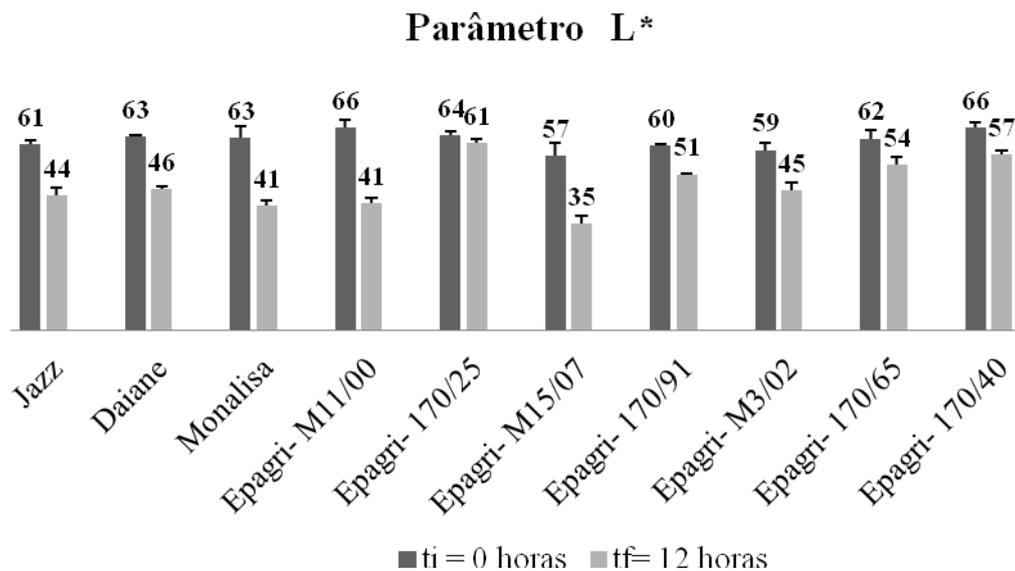


Figura 16 – Parâmetro L^* (luminosidade) - [Escala: 0 (preto) a 100 (branco)] de dez cultivares de maçãs expressos em base úmida (BU). Valores representados como valor médio \pm desvio padrão da triplicata.

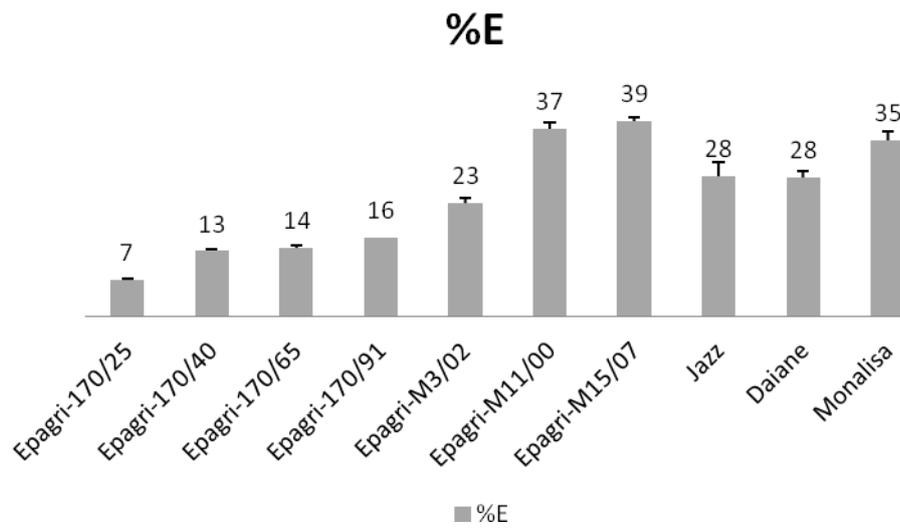


Figura 17 – Escurecimento enzimático (%) de dez cultivares de maçãs expressos em base úmida (BU). Valores representados como valor médio \pm desvio padrão da triplicata.

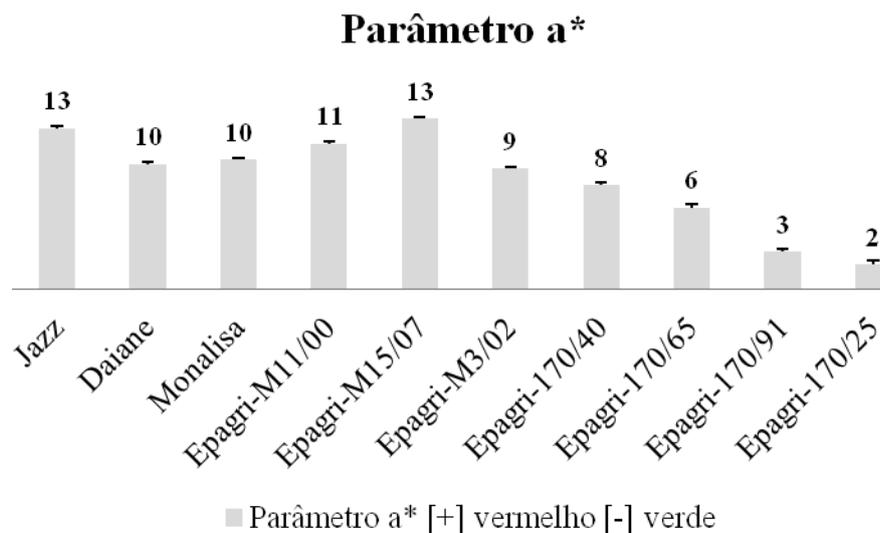


Figura 18 – (a) Parâmetro a* (cromaticidade) de dez cultivares de maçãs expressos em base úmida (BU). Valores representados como valor médio \pm desvio padrão da triplicata.

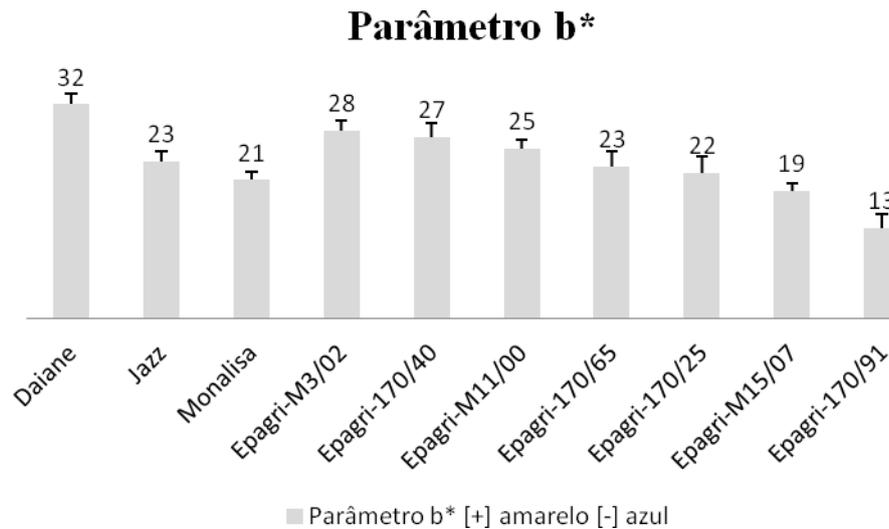


Figura 18- (b) Parâmetro b* (cromaticidade) de dez cultivares de maçãs expressos em base úmida (BU). Valores representados como valor médio \pm desvio padrão da triplicata.

5.2.3 Acidez total titulável (ATT)

A Figura 19 (Anexo 9) mostra os resultados de ATT das cultivares de maçãs estudadas. As cultivares que apresentaram as maiores ATT foi Epagri-170/91 e Epagri-170/25. As cultivares com as menores ATT foram Epagri-M3/02 e Epagri-M11/00.

Chagas et al., (2012) relataram que para algumas cultivares de maçãs os valores de ATT variaram de 0,36 à 0,61 g AM. 100 g⁻¹, o que está de acordo com dados encontrado no presente trabalho e diz que a elevada acidez apresenta-se como um atributo de grande expressão na discriminação de cultivares de maçãs, sendo importante para o mercado industrial de sucos e atribui para maçãs ácidas valores acima de 0,45 g AM. 100 g⁻¹ (VIEIRA et al., 2009-a). Os resultados obtidos para as maçãs com maior conteúdo de ácido málico foram superiores aos resultados encontrados por Feliciano et al., (2010), nos quais encontraram para variedades de maçãs comuns e exóticas consumidas em Portugal, entre 0,14 a 2,8 g AM. 100 g⁻¹ de amostra. Já para as demais amostras analisadas, resultados equivalentes foram obtidos.

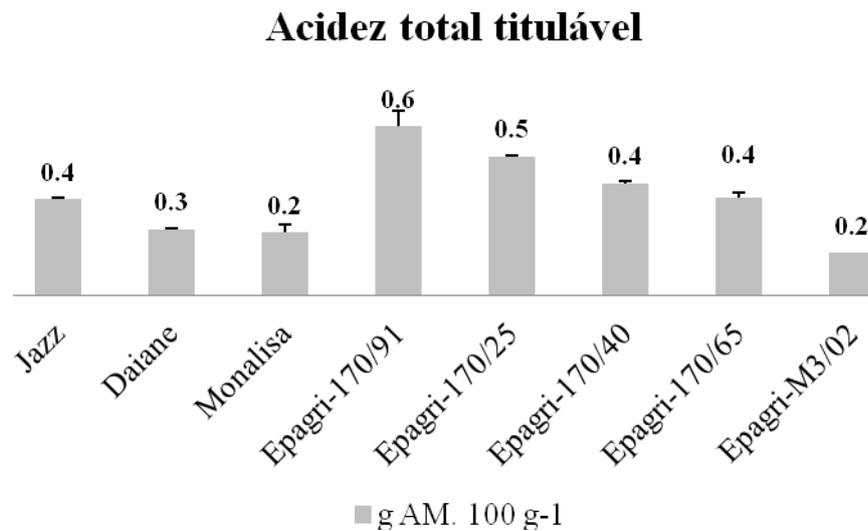


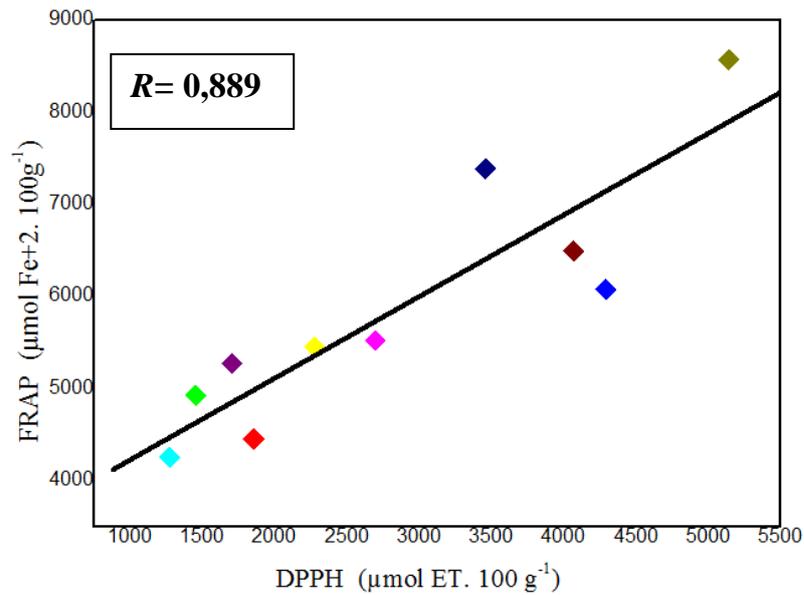
Figura 19 – Acidez total titulável (g AM. 100 g⁻¹ amostra) de dez cultivares de maçãs expressos em base úmida (BU). Valores representados como valor médio ± desvio padrão da triplicata. AM- Ácido Málico.

5.3 ANÁLISE DAS CORRELAÇÕES

5.3.1 Correlação entre Valores de CAT

A relação entre os dados foram avaliados mediante o coeficiente de correlação de Pearson (R). A Figura 20 (*a* e *b*) mostram os gráficos de correlação entre valores de CAT pelo ensaio DPPH versus FRAP das polpas e cascas das amostras estudadas respectivamente. De acordo com as figuras, tanto os valores das cascas quanto das polpas apresentaram coeficientes de correlação (R) satisfatórios. No entanto, o valor de R das cascas (0,931) foi superior ao das polpas (0,889). Boas correlações entre os dados do ensaio de DPPH e FRAP são esperados, uma vez que ambos os ensaios atuam pelo mesmo princípio que é uma reação de transferência de elétrons entre os reagentes e os compostos antioxidantes (XIAOWEI et al., 2011).

a)



b)

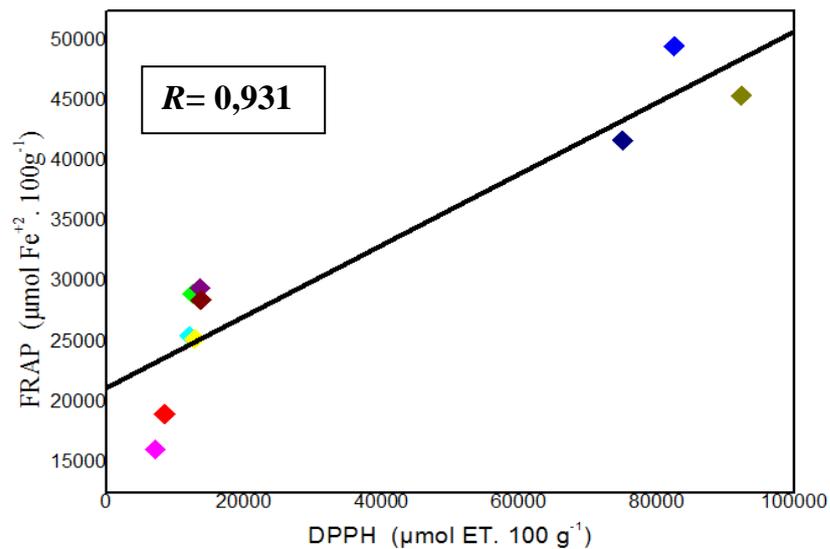


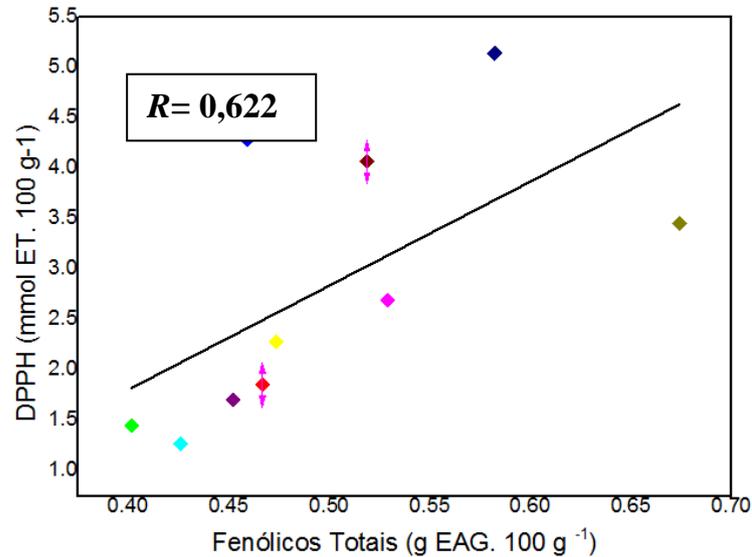
Figura 20 – Correlação entre DPPH versus FRAP de polpas (a) e das cascas (b) de dez cultivares de maçãs.

Um grande número de substâncias antioxidantes que podem contribuir para a capacidade antioxidante de uma determinada fruta. Para explorar a influência dos constituintes fenólicos sobre a capacidade antioxidante em maçãs, foi determinada as correlações entre os métodos utilizados para determinar a CAT e de fenólicos totais (FT).

A partir da Figura 21 (a e b), pode observar relações lineares significativas para FT versus DPPH em polpas (0,622) e cascas (0,933). Os altos valores dos coeficientes de correlação linear (R) são um indicativo que os compostos fenólicos são os principais

contribuintes para a capacidade antioxidante referente ao método de análise. Vieira et al., (2011) também encontrou correlação significativa entre FT e DPPH em cultivares de maçãs analisados (0,741).

a)



b)

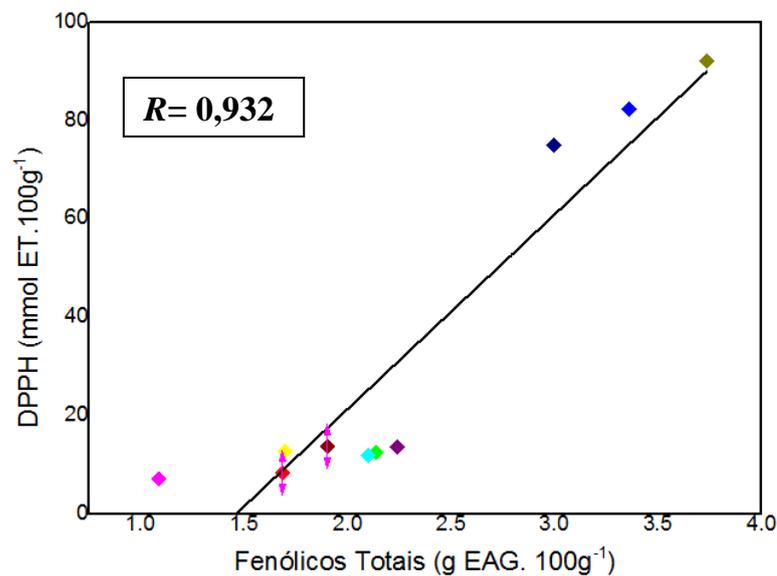
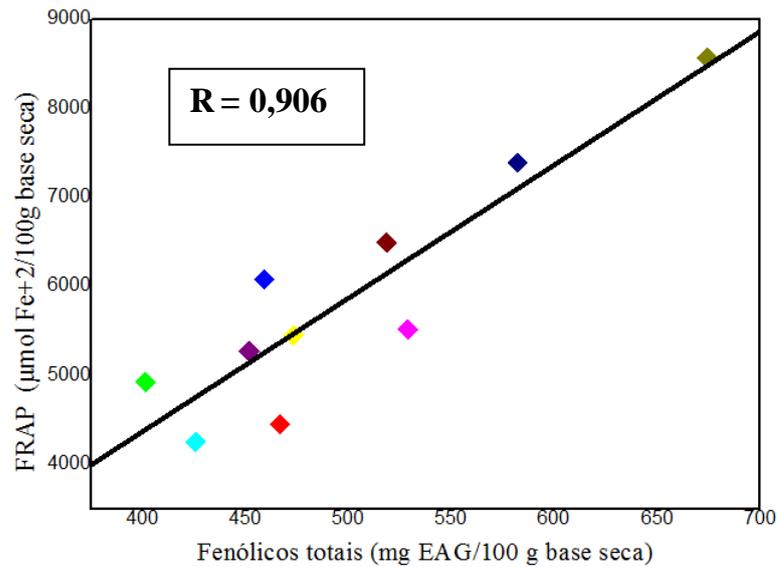


Figura 21 – Correlação entre DPPH versus Fenólicos Totais (FT) de polpas (a) e cascas (b) das 10 cultivares de maçãs.

A Figura 22 (a e b) mostra a relação entre FT versus FRAP para polpas e cascas das dez cultivares de maçãs analisadas. De acordo com os resultados, valores de correlações de 0,906 e 0,964 foram encontrados para polpa e casca, respectivamente.

a)



b)

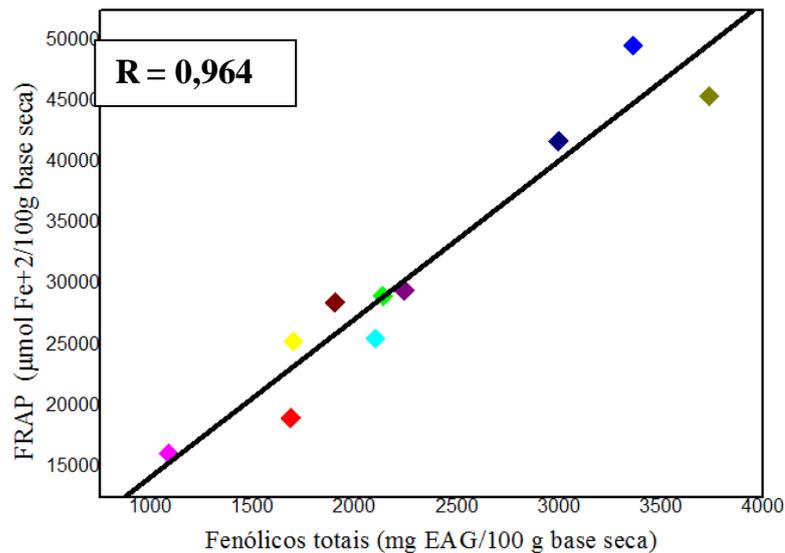


Figura 22 – Correlação entre versus FRAP e fenólicos totais (FT) das polpas (a) e cascas (b) de dez cultivares de maçãs.

A partir das correlações, pode-se observar que a CAT das maçãs analisadas é dependente dos teores de polifenóis. Esses dados estão de acordo com Chang et al., (2001), que relatou que os compostos fenólicos nas frutas estão associados com a sua atividade antioxidante, provavelmente devido às suas propriedades redox, que permitem agir como agentes redutores.

A Figura 23 ilustra a correlação entre FT e teor de antocianinas das cascas de dez cultivares de maçãs analisadas neste estudo. Obteve-se forte correlação entre estes parâmetros

(0,713), indicando que os teores de compostos fenólicos de cascas de maçãs estão fortemente relacionados com a quantidade de antocianinas. Vieira et al., (2011) analisaram cascas de onze variedades de maçãs e não encontraram correlação entre o conteúdo de fenólicos totais e antocianinas. Entretanto, os resultados obtidos estão de acordo com o trabalho proposto por Zardo et al., (2009), os quais analisaram cascas de cultivares de maçãs vermelhas, e determinaram elevadas teores de compostos fenólicos e antocianinas.

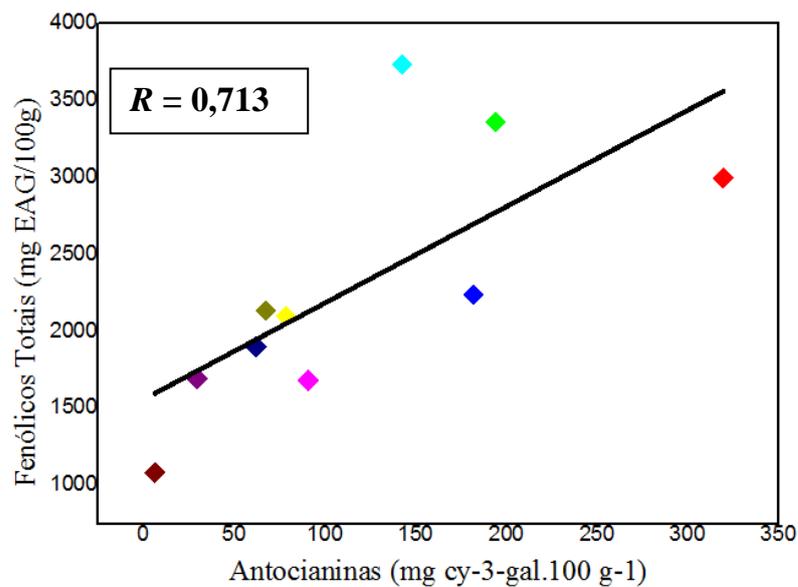


Figura 23 – Correlação entre FT e Antocianinas de casca de 10 cultivares de maçãs.

5.3.2 Correlação entre Valores de FT, APPO, % E, ATT e Vitamina C

A correlação entre os dados de FT, APPO, % E e ATT também foram avaliados mediante o coeficiente de correlação de Pearson (R) e os dados são mostrados na Tabela 1. Pode ser observado uma correlação negativa e moderada entre APPO e ATT (0,588), forte correlação e negativa entre % E e ATT (0,773). Os resultados estão de acordo com Moretti (2007), que diz que frutas com alta acidez apresentam baixa atividade para polifenoloxidase. Zemel et al., (1990), relataram que alguns ácidos podem inibir o escurecimento enzimático em frutas e hortaliças, como os ácidos cítrico, málico e fosfórico, em consequência da alta acidez ocorre a inativação da enzima, não ocorrendo escurecimento proveniente de enzimas.

O valor do coeficiente de Pearson para a relação % E x APPO foi moderado (0,658), este resultado indicaram que a enzima polifenoloxidase possivelmente foi a responsável pelo escurecimento enzimático das cultivares analisadas. O resultado está de acordo com Tomás-Barberán & Espín (2001) que relataram que a enzima polifenoloxidase (PPO) é a catalisadora

da reação de oxidação dos compostos fenólicos quando em contato com o oxigênio do ar, com a produção de polímeros de coloração marrom (melaninas).

De acordo com os dados obtidos para APPO x FT, pode ser observado que houve correlação moderada entre os parâmetros (-0,627), e observou-se tendência inversamente proporcional entre estes parâmetros, indicando que cultivares com baixas quantidades de FT apresentaram alta APPO. Este resultado pode estar relacionado com a inativação da PPO em amostras com elevada acidez e teor de vitamina C, mesmo contendo elevado conteúdo de substrato para a enzima, a APPO apresenta-se baixa. Resultado diferente foi obtido por Song et al., (2007), apresentando correlação expressiva e positiva entre a atividade de PPO e compostos fenólicos totais (0,820), em estudo desenvolvido com quatro variedades de maçãs.

Fraca correlação foi obtida para FT x % E (-0,233). De acordo com os resultados obtidos houve uma tendência inversamente proporcional, indicando que os frutos que escureceram enzimaticamente apresentaram baixa quantidade de FT. Porém, as variedades apresentaram menores % E, maiores teores de FT e menores APPO, são elas Epagri 170/91, Epagri170/25, Epagri170/40 e Epagri170/65.

A correlação entre FT x ATT mostrou uma tendência positiva e moderada (0,394). As amostras que apresentaram os melhores resultados para FT também apresentaram para a ATT, porém esta relação não foi obtida para todas as amostras. Amostras que apresentaram elevado conteúdo de substrato para a enzima PPO, compostos fenólicos, também apresentaram elevada ATT. Alta acidez causa a inativação enzimática e este resultado pode ser constatado pela análise da correlação entre APPO x ATT e pelo fato de as amostras que apresentaram elevada ATT, apresentaram baixa APPO, mesmo possuindo elevados teores de FT, a enzima foi inativada para estas cultivares. Para amostras com baixa ATT, a enzima não foi inativada e a APPO foi elevada e escureceram em contato com o oxigênio do ar. Portanto, a APPO está relacionada com a ATT, a enzima é inativada e os compostos fenólicos não são oxidados, permanecendo inalterados na fruta, mantendo sua ação antioxidante.

A correlação entre APPO x teor de vitamina C (-0,524) foi moderada com tendência negativa, indicando que variedades que apresentaram baixa atividade da enzima polifenoloxidase apresentaram maiores teores de ácido ascórbico. Este resultado está de acordo com Marshall et al., (2000), que diz que ácido ascórbico ou vitamina C, além de atribuir valor nutricional aos alimentos, também apresenta ação redutora. A ação do ácido ascórbico frente à APPO pode ser confirmada também pela forte e inversa correlação entre teor de vitamina C e % E (- 0,722). Komthong et al., (2007) diz que a ação do ácido ascórbico na prevenção do escurecimento enzimático é reduzir os intermediários *O*-quinonas aos

compostos fenólicos de origem antes de poderem sofrer uma reação adicional para formar os pigmentos, agindo diretamente na enzima, complexando o cobre do grupo prostético da PPO, causando sua inibição e reduzindo as quinonas a sua forma anterior de fenóis, impedindo a formação dos pigmentos escuros (SAPERS & MILLER, 1998).

Tabela 1 – Valores de regressão linear e coeficiente de correlação das análises *FT*, *ATT*, *APPO*, *%E* e *vitamina C* da polpa das maçãs.

Correlações	Coeficiente de correlação de Pearson ®
<i>FT x APPO</i>	-0,627
<i>FT x %E</i>	- 0,233
<i>FT x ATT</i>	0,394
<i>APPO x %E</i>	0,658
<i>APPO x ATT</i>	- 0,588
<i>ATT x %E</i>	- 0,773
<i>APPO x vitamina C</i>	- 0,524
<i>Vitamina C x % E</i>	- 0,722

CONCLUSÃO

Os resultados deste estudo indicou que o conteúdo de FT contribui significativamente para a CAT de maçãs, que é fortemente dependente da cultivar e das partes dos frutos estudados (polpa e casca). Em ambas as partes da maçã (polpa e casca), a Epagri-170/91, Epagri-170/25 e Epagri-M3/02, tiveram o maior teor de FT e CAT medida pelos ensaios de DPPH e de FRAP, ao passo que os valores mais baixos foram encontrados em Epagri-M11/00 para ambos os testes. As diferenças significativas entre as amostras de maçã confirmaram que a cultivar é o fator determinante na composição de compostos bioativos em maçãs. Além disso, a contribuição dos FT na CAT na polpa e casca e a boa correlação entre conteúdo de FT e Antocianinas nas cascas, confirmaram seu importante papel na bioatividade de maçãs e sugere que a remoção da casca pode induzir uma perda significativa de nutrientes. Os melhores resultados deste estudo foram obtidos para as maçãs melhoradas geneticamente. Isto demonstra a importância do melhoramento genético de cultivares de maçãs, no qual além da obtenção de produtividade elevada, melhora a aparência, a resistência aos agentes patogênicos, propriedades organolépticas (cor, por exemplo), e também o conteúdo nutracêutico da fruta, obtendo novos híbridos comerciais com melhor valor nutricional.

Uma característica observada entre as cultivares de maçãs melhoradas geneticamente deste estudo foi que algumas das variedades não escureceram quando expostas ao oxigênio do ar por um intervalo de tempo 12 a 24 horas. Como resultado da investigação desta característica, os parâmetros correlacionados levaram à inativação da enzima PPO pela alta acidez presente na polpa destes frutos, tendo como resultado, baixa percentagem de escurecimento enzimático (% E). Estes resultados foram encontrados para as amostras Epagri-170/91 e Epagri-170/25, e tendência moderada para as demais amostras. O teor de vitamina C também se correlacionou com a inativação da enzima Polifenol oxidase para estas cultivares e tendência moderada para as demais amostras. As cultivares menos resistentes ao escurecimento foram Epagri-M15/07, Epagri-M11/00 e Monalisa, possivelmente porque apesar de apresentarem teor de substrato (compostos fenólicos) para a enzima PPO, semelhantes às amostras que não escureceram, apresentaram os menores teores de acidez total titulável e também de vitamina C, obtendo-se para estas cultivares as maiores atividades enzimáticas.

O resultado deste estudo mostrou que estes novos híbridos se destacaram diante dos parâmetros analisados e podem ser ótimas fontes de antioxidantes e boas matérias-primas para

a indústria de derivados de maçãs e ainda confirmaram que a maçã é uma ótima fonte de compostos bioativos.

REFERÊNCIAS

ABPM. Associação Brasileira de Produtores de Maçã. **Dados estatísticos sobre a cultura da macieira**. Disponível em: <<http://www.abpm.org.br>>. Acesso em: 2 fev. 2009.

ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DE NORMAS TÉCNICAS. **NBR 10520**: informação e documentação: citações em documentos: apresentação. Rio de Janeiro, ago. 2002.

_____. **NBR 14724**: informação e documentação: trabalhos acadêmicos: apresentação. 3. ed. Rio de Janeiro, mar. 2006.

_____. **NBR 6023**: informação e documentação: referências – elaboração. Rio de Janeiro, 2000.

_____. **NBR 6024**: informação e documentação: numeração progressiva das seções de um documento escrito: apresentação. Rio de Janeiro, maio 2003.

_____. **NBR 6027**: informação e documentação: sumário: apresentação. Rio de Janeiro, maio 2003.

_____. **NBR 6028**: informação e documentação: resumo: apresentação. Rio de Janeiro, nov. 2003.

ASSOCIATION OF OFFICIAL ANALYTICAL CHEMISTS - AOAC. **Official methods of analysis of the AOAC**. Washington, 2, 16-17, 1997.

AWAD, M. A.; JAGER, A., van der PLAS, L. H. W., van der KROL A. R. Flavonoid and chlorogenic acid changes in skin of «Elstar» and «Jonagold» apples during development and ripening. **Science Horticulturae**, 90, n. 1-2, 69-83, 2001.

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, p.191–203.

BENZIE, I. F. F.; STRAIN, J. J. The Ferric Reducing Ability of Plasma (FRAP) as a Measure of “Antioxidant Power”: The FRAP Assay. **Analytical Biochemistry**, 239, 70–76, 1996.

BERNAUD, F. S. R.; Funchal, C. Atividade Antioxidante do açaí. **Nutrição Brasil**, v. 10 (5), p. 310-316, 2011.

BEVERIDGE, T.; WEINTRAUB, S. E, Effect of blanching pretreatment on color and texture of apple slices at various water activities. **Food Research International**, Barking, 28 (1), 83-86, 1995.

BONETI, J. I. S.; CESA, J. D.; PETRI, J. L.; BLEICHER, J. Evolução da cultura da macieira. In: Empresa de Pesquisa Agropecuária e Extensão Rural de Santa Catarina S.A. **A cultura da macieira**. Florianópolis, 2002.

- BOROSKI, M.; AGUIAR, A. C.; BOEING, J. S.; ROTTA, E. M.; WIBBY, C. L.; BONAFÉ, E. G.; SOUZA, N. E.; VISENTAINER, J. V. Enhancement of pasta antioxidant activity with oregano and carrot leaf. **Food Chemistry**, 125, 696–700, 2011.
- BOYER, J.; LIU, R.H. Apple phytochemicals and their health benefits. **Nutrition Journal**. 3, 517S–520S, 2004.
- BRAND-WILLIAMS, W., CUVELIER, M. E.; BERSET, C. Use of a free radical method to evaluate antioxidant activity. **LWT Food Sci. Technol.** 28, 25–30, 1995.
- BUBNOVICH, V.; REYS, A.; QUIJADA, E.; MARHN, A. Numerical simulation os lyophilization of carrot slices at atmospheric pressure in a fluidized bed. **Journal of Food Engineering**, 109, 659-667, 2012.
- CARBONE, K.; GIANNINI, B.; PIOCCHI, V.; LO SCALZO, R.; CECCHINI, F. Phenolic composition and free radical scavenging activity of different Apple varieties in relation to the cultivar, tissue type and storage. **Food Chemistry**, 127, 493-500, 2011.
- CHAGAS, E.; CHAGAS, P.; PIO, R.; NETO, J.; SANCHES, J. Produção e atributos de qualidade de cultivares de macieira nas condições subtropicais da região Leste paulista. **Ciência Rural**, vol. 42, n. 10. Santa Maria, 2012.
- CHANG, S.T.; WU, J.H.; WANG, S.Y.; KANG, P.L.; YANG, N.S.; SHYUR, L.F. Antioxidant activity of extracts from *Acacia confusa* bark and heartwood. **Journal Agriculturae and Food Chemistry**. 49, 3420–3424, 2001.
- COLLINS, J. L.; MCCARTY, I. E. Comparison of microwave energy with boiling water for blanching whole potatoes. **Journal of Food Technology**. Oxford, 23, 63-66, 1969.
- DANTAS, A. C. M.; PEIXOTO, M. L.; NODARI, R. O.; GUERRA, M. P. Viabilidade do pólen e desenvolvimento do tubo polínico em macieira (*Malus* spp.). **Revista Brasileira de Fruticultura**, v. 27, n. 3, Jaboticabal, 2005.
- DEGASPARI, C.H.; WASZCZYNSKYJ, N. Propriedades Antioxidantes de compostos fenólicos. **Visão Acadêmica**, Curitiba, v. 5, n. 1, p. 33-40, 2004.
- DI PIETRO, P.F.; MEDEIROS, N.I.; VIEIRA, F.G.K.; FAUSTO, M.A.; BELLÓ-KLEIN, A. Breast cancer in southern Brazil: association with past dietary intake. **Nutrición Hospitalaria**, 22, 565–572, 2007.
- DOWNHAM A.; COLLINS P. Colouring our foods in the last and next millennium. **International Journal of Food Science & Technology**, 35, 5-22, 2000.
- DROGOUDI, P.D.; MICHAILEDIS, Z.; PANTELIDIS, G. Peel and flesh antioxidant content and harvest quality characteristics of seven apple cultivars. **Scientia Horticulturae**. 115, 149–153, 2008.
- EBERHARDT, M.V.; LEE, C.Y.; LIU, R.H. Antioxidant activity of fresh apples. **Nature**, 405, 903–904, 2000.

EPAGRI – Empresa de Pesquisa Agropecuária e Extensão Rural de Santa Catarina. A cultura da macieira. **CGM/Epagri**, Florianópolis, 2002.

FELICIANO, R. P.; ANTUNES, C.; RAMOS, A.; SERRA, A. T.; FIGUEIRA, M.; DUARTE, C.M.M.; CARVALHO, A.; BRONZE, M. R. Characterization of traditional and exotic apple varieties from Portugal. Part 1 – Nutritional, phytochemical and sensory evaluation. **Journal of Functional Foods**, 2 (1), 35-45, 2010.

GAWLIK-DZIKI, U.; SZYMANOWSKA U.; BARANIAK B. Characterization of polyphenol oxidase from broccoli (*Brassica oleracea* var. *botrytis italica*) florets. **Food Chemistry**, 105, 1047–1053, 2007.

GOUP, P.; AMIOT M. J.; RICHARD-FORGETT, F.; DUPRAT, F.; AUBERT, S.; NICOLAS, J. Enzymatic browning of model solutions and apple phenolic extracts by apple polyphenoloxidase. **Journal of Food Science**, Chicago, 60, 497-505, 1995.

HAMINIUK, C.; OLIVEIRA, C.; BAGGIO, E.; MASSON, M. Efeito de pré-tratamentos no escurecimento das cultivares de maçã Fuji e Gala após o congelamento. **Ciências e Agrotecnologia**. Lavras, 29 (5), 1029-1033, 2005.

HARBONE, J.B.; WILLIAMS, C.A. Advances in flavonoid research since 1992. **Phytochemistry**, 52, 481-504, 2000.

HIRATA, L. L.; SATO, M. E. O.; SANTOS, C. A. M. Radicais livres e o envelhecimento cutâneo. **Acta Farmacêutica Bonaerense**, Buenos Aires, 23 (3), 418-424, 2004.

HUANG, D.; OU, B.; PRIOR, R. L. The Chemistry behind Antioxidant Capacity Assays. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, 53, 1841-1856, 2005.

HYSON, D.; STUDEBAKER-HALLMAN, D.; DAVIS, P.A.; GERSHWIN, M.E. Apple juice consumption reduces plasma low-density lipoprotein oxidation in healthy men and women. **Journal of Medicinal Food**, 3, 159–166, 2000.

HYUN, J. J.; DEOG, M. K. Inhibition of polyphenol oxidase and peroxidase activities on fresh-cut apple by simultaneous treatment of ultrasound and ascorbic acid. **Food Chemistry**, 124, 444 – 449, 2011.

IBARZ A.; PAGAN J.; GARZA S. Kinetic models for colour changes in pear puree during heating at relatively high temperatures. **Journal of Food Engineering**, 39, 415- 422, 1999. IBGE. Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística. Disponível em: <<http://www.ibge.gov.br>>. Acesso em: maio 2011.

IGLESIAS, I.; ECHEVERRÍA, G.; SORIA, Y. Differences in fruit colour development, anthocyanin content, fruit quality and consumer acceptability of eight ‘Gala’ apple strains. **Scientia Horticulturae**, 119, 32-40, 2008.

ITAL - Instituto de Tecnologia de Alimentos. **Análises químicas de alimentos**. Campinas, 1990. p. 60. (Technical Manual).

KASPAR, J.C.; FRIESS, W. The freezing step in lyophilization: Physico-chemical fundamentals, freezing methods and consequences on process performance and quality attributes of biopharmaceuticals. **European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics**, 78, 248-263, 2011.

KAUR, C.; KAPOOR, H. C. Antioxidants in fruits and vegetables - the millennium's health. **International Journal of Food Science and Technology**, 36, n. 7, 703-725, 2001.

KHANIZADEH, S.; TSAO, R.; REKIKI, D.; YANG, R.; CHARLES, M.T.; RUPASINGHE, H.P.V. Polyphenol composition and total antioxidant capacity of selected apple genotypes for processing. **Journal of Food Composition and Analysis**, 21, 396-401, 2008.

KOMTHONG, P.; IGURA, N.; SHIMODA, M. effect of ascorbic acid on the odours of cloudy Apple juice. **Food Chemistry**. 100 (4), 1342-1349, 2007.

KORBAN, S.S. Interspecific hybridization in *Malus*. **HortScience**, Alexandria, 21, 41-48, 1986.

KROLOW, A. C. Algo mais sobre maçã. **Infobibos - Informações Tecnológicas para o Agronegócio**. Disponível em: <http://www.Artigos/2011_1/AlgoMais/index.htm>. Acesso em: maio 2011.

KUSKOSKI, E.M., ASUERO, A. G., GARCÍA-PARILLA, M. C., TRONCOSO, A. M., FETT, R. Actividade antioxidante de pigmentos antocianicos. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v. 24 (4), p. 691- 693, 2004.

KUSKOSKI, E.M., ASUERO, A. G., GARCÍA-PARILLA, M. C., TRONCOSO, A. M., FETT, R. Frutos tropicais silvestres e polpas de frutas congeladas: atividade antioxidante, polifenóis e antocianinas. **Ciência Rural**, v. 36, p. 1283-1287, 2006.

LEA, A.; DRILLEAU, J. F. Cider-making. In: **Fermented beverage production**. London: Ed. LEA, 59-87, 2003.

LECCESE, A.; BARTOLINI, S.; VITI, R. Antioxidant properties of peel and flesh in Goldrush and Florina scab-resistant apple (*Malus domestica*) cultivars. **New Zealand Journal of Crop and Horticultural Science**. 37, 71-78, 2009.

LEE, K.W., KIM, Y.J., KIM, D., LEE, H.J., LEE, C.Y. Major phenolics in apple and their contribution to the total antioxidant capacity. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**. 51, 6516-6520, 2003.

LI X., ZHANG J. Y., GAO W. Y., WANG Y., WANG H. Y., CAO J. C., HUANG L. Q. Chemical Composition and Anti-inflammatory and Antioxidant Activities of Eight Pear Cultivars. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, 60, 8738-8744, 2012.

LIMA, M. A. C., ALVES, R. E., FILGUEIRA A. S., H.A.C. Comportamento respiratório e qualidade pós-colheita de graviola (*Annona muricata* L.) 'morada' sob temperatura ambiente. **Revista Brasileira de Fruticultura**, Jaboticabal, 25, n. 1, 49-52, 2003.

- MAPSON, T. SWAIN; AW TOMALIN. Influência da variedade, condições de cultura e a temperatura de armazenamento no escurecimento enzimático de tubérculos de batata. **Jornal da Ciência para Agricultura e Alimentação**, 13, 673-676, 1963.
- MARI, A. TEDESCO, I.; NAPPO, A.; RUSSO, G.L.; MALORNI, A.; CARBONE, V. Phenolic compound characterisation and antiproliferative activity of “Annurca” apple, a southern Italian cultivar. Phenolic compound characterisation and antiproliferative activity of “Annurca” apple, a southern Italian cultivar. **Food Chemistry**, 123 (1), 157-164, 2010.
- MARQUES, L.G.; FERREIRA, M.C.; FREIRE, J.T. Freeze-drying of acerola (*Malpighia glabra L.*). **Chemical Engineering and Processing**, 46,451-457, 2007.
- MARQUES, L.G.; PRADO, M.M.; FREIRE, J.T. Rehydration characteristics of freeze-dried tropical fruits. **Food Science and Technology**, 42, 1232-1237, 2009.
- MARSHALL, M. R.; KIM, J.; WEI, C. **Enzymatic browning in fruits, vegetables and seafoods**. 2000. Washington: FAO, Disponível em: <<http://www.fao.org/ag/ags/agsi/enzymefinal/enzymatic%20browning.htm>>. Acesso em: maio 2011.
- MARTINS, A. C.; BUKMAN, L.; VARGAS, A. M. M.; BARIZÃO, E. O.; MORAES, J. C. G.; VISENTAINER, J. V.; ALMEIDA, V. C. The antioxidant activity of teas measured by the FRAP method adapted to the FIA system. Optimising the conditions using the response surface methodology. **Food Chemistry**, 138 (1), 574-580, 2013.
- MORETTI, C. L. Manual de processamento mínimo de frutas e hortaliças. Brasília: **Embrapa Hortaliças**, 1-77, 2007.
- NACZK, M., SHAHIDI, F. Extraction and analysis of phenolics in food. **Journal of Chromatography**, Amsterdam, 1054, n. 1-2, 95-111, 2004.
- NICOLAS, J.J.; RICHARD-FORGET, F.C.; GOUPY, P.M.; AMIOT, M.J.; AUBERT, S.Y. Enzymatic browning reactions in apple and apple products. **Critical Reviews in Food Science and Nutrition**, 34, n. 2, 109-157, 1994.
- NIJVELDT, R.J.; NOOD E.; HOORN D.E.; BOELENS P.G.; NORREN K.; LEEUWEN P.A. Flavonoids: a review of probable mechanisms of action and potential applications. **American Journal of Clinical Nutrition**, 74 (4), 418-425, 2001.
- NOGUEIRA, A. **Tecnologia de processamento sidricola**. Efeitos do oxigênio e do nitrogênio na fermentação lenta da sidra. Curitiba, PhD Thesis, Universidade Federal do Paraná. 2003.
- O PULSAR DA TERRA. Disponível em: <<http://opulsardaterra.blogspot.com.br/2011/02/relatorio-sobre-frutos-e-sementes.htm>>. Acesso em 18 fev. 2013.
- ORTOLAN, F. **Genótipos de trigo do Paraná – safra 2004**: caracterização e fatores relacionados à alteração de cor de farinha. 2006. Dissertação (mestrado). Universidade de Santa Maria, Programa de Pós-graduação em Ciência e Tecnologia de Alimentos. Santa Maria-RS.

- OZOGLU, H., BAYINDIRLI, A. Inhibition of enzymic browning in cloudy apple juice with selected antibrowning agents. **Food Control**, 13, 213–221, 2002.
- PELEG, H.; BODINE, K. K.; NOBLE, A. C. The influence of acid on adstringency of alum and phenolic compounds. **Chemical Senses**, Oxford, v. 23, n. 3, p. 371–378, 1998.
- PEREZ-ILZARBE, J.; HERNANDEZ, T.; ESTRELLA, I., Phenolic Compounds in Apples: varietal differences. **Zeitschrift für Lebensmittel - Untersuchung und Forschung**, n. 6, 551–554, 1991.
- PETRI, J. L.; LEITE, G. B.; COUTO, M.; FRANCESCOTTO, P. Avanços na cultura da macieira no Brasil. **Revista Brasileira de Fruticultura**, volume especial, p. 48–56, 2011.
- PIMENTEL, B. M. V.; FRANCKI, M.; GOLLUCKE, B. P. **Alimentos funcionais: introdução as principais substâncias bioativas em alimentos**. São Paulo: Varela, 2005.
- PRIOR, R. L.; WU, X.; SCHAICH, K. Standardized Methods for the Determination of Antioxidant Capacity and Phenolics in Foods and Dietary Supplements. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, 53, 4290–4302, 2005.
- PRIOR, R.L. Fruits and vegetables in the prevention of cellular oxidative damage. **American Journal of Clinical Nutrition**, 78, 570–578, 2003.
- QUEIROZ, C. Polyphenol oxidase activity, phenolic acid composition and browning in cashew apple (*Anacardium occidentale*, L.) after processing. **Food Chemistry**, 125, 128–132, 2011.
- QUEVEDO R.; JARAMILLO M.; DÍAZ O.; PEDRESCHI F.; AGUILERA J. M. Quantification of enzymatic browning in apple slices applying the fractal texture Fourier image. **Journal of Food Engineering**, 95, 285–290, 2009.
- RICE-EVANS, C.A.; MILLER, N.J.; PAGANGA, G. Antioxidant properties of phenolic compounds. **Trends in Plant Science**, 2, n. 4, 304–309, 1997.
- ROJAS-GRAU, M.A.; SOBRINO-LOPEZ, A.; TAPIA, M.S.; MARTIN-BELLOSO, O. Browning inhibition in fresh-cut ‘Fuji’ apple slices by natural antibrowning agents. **Journal of Food Science**, 71, 59–65, 2006.
- RUFINO, M. S. M. **Propriedades funcionais de frutas tropicais brasileiras não tradicionais**. 2008. 263 f. Tese (Doutorado em Agronomia). Universidade Federal do Semi-Árido-Mossoró, Rio Grande do Norte.
- SAPPERS, G. M.; MILLER, R. L. Browning inhibition in fresh-cut pears. **Journal of Food Science**. 63, n. 2, 342–346, 1998.
- SCHUCH, M. W.; PETERS, J. A. Regeneração de Brotações de Macieira. **Revista Brasileira de Fruticultura**, Jaboticabal - SP, 24, n. 2, 301–305, 2002.
- SHADIDI, F.; NACZK, M. **Food phenolics sources, chemistry, effects, applications**. Lancaster, Pennsylvania. Technomic Publishing Company Co, 1995.

SILVA, M.V.; ROSA, C.I.L.F.; VILAS BOAS, E.V.B. Conceitos e métodos de controle do escurecimento enzimático no processamento mínimo de frutas e hortaliças. **Boletim do Centro de Pesquisa de Processamento de Alimentos**, Curitiba. 27, n. 1, p. 83-96 jan./jun. 2009.

SIMÕES, D.; WASZCZYNSKYJ, N.; WOSIACKI, G. Aromas em maçãs, suco e sidra: revisão. *Boletim de Centro de Pesquisa de Processamento de Alimentos*, v.27, p.153-172, 2009.

SINGLETON, V. L.; ORTHOFER, R.; LAMUELA-RAVENTÓS, R.M. Analysis of total phenols and other oxidant substrates and antioxidants by means Folin Ciocalteu reagent. **Methods of Enzymology**, v. 299, p. 152-178, 1999.

SINGLETON, V. L.; ROSSI, J. A. Colorimetric of total phenolics with phosphomolybdic-phosphotungstic acid reagents. **American Journal Enology and Viticulture**, 16, 144–146, 1965.

SONG, Y.; YAO, Y.; ZHAI, H.; DU, Y.; CHEN, F.; WEI, S. Polyphenolic compound and the degree of browning in processing apple varieties. **Agricultural Sciences in China**, 6(5), 607-612, 2007.

SOUZA, C.M.M., SILVA, H.R.E, VIEIRA-JR, G.M., AYRES, M.C.C., COSTA, C.L.S., ARAÚJO, P.B.M., BRANDÃO, M.S., CHAVES, M.H., (2007). Phenolics compounds and antioxidant activity of five medicinal plants. **Química Nova**, v. 30, n. 2, 351-355.

SUNTORNUSUK, L.; GRITSANAPUN, W.; NILKAMHAK, S.; PAOCHOM, A. Quantitation of vitamin C content in herbal juice using direct titration. **Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis**. Amsterdam, 28, 849-855, 2002.

TERPINC, P.; CEH, B.; ULRIHM N. P.; ABRAMICIC, H. Studies of the correlation between antioxidant properties and the total phenolic content of different oil cake extracts. **Industrial Crops and Products**, 39, 210– 217, 2012.

TOMÁS-BARBERÁN, F.A.; ESPÍN, J.C. Phenolic compound of quality in fruits and vegetables. **Journal Science of Food and Agriculture**, 81, 853-876, 2001.

TSAO, R.; YANG, R.; XIE, S.; SOCKOVIE, E.; KHANIZADEH, S. Which polyphenol compounds contribute to the total antioxidant activities of apple. **Journal of Agriculture and Food Chemistry**, 53, n. 12, 4989-4995, 2005.

VALKO, M.; RHODES, C.J.; MONCOL, J.; IZAKOVIC, M.; MAZUR, M. Free radical, metals and antioxidants in oxidative stress-induced cancer. **Chemico-Biological Interactions**. 160, 1-40, 2006.

VIEIRA, F. G. K. **Atividade antioxidante in vitro e in vivo de diferentes cultivares de maçã (*Malus doméstica* Borkh) do Estado de Santa Catarina**. Botânica e fisiologia da macieira. Melhoramento genético da macieira. 2010. 170f. Tese (Doutorado em Ciências de Alimentos). Universidade Federal de Santa Maria. Santa Maria-SC.

VIEIRA, F.G.K., BORGES G.S.C., COPETTI C., DI PIETRO P.F., NUNES E.C., FETT, R. Activity and contents of polyphenolic antioxidants in the whole fruit, flesh and peel of three apple cultivars. **Archivos Latinoamericanos de Nutrición**, 59, 101–106, 2009.

VIEIRA, F.G.K., BORGES G.S.C., COPETTI C., DI PIETRO P.F., NUNES E.C., FETT, R. Physico-chemical and antioxidant properties of six apple cultivars (*Malus domestica* Borkh) grown in southern Brazil. **Scientia Horticulturae**, 122, n. 3, 421-425, 2009.

VIEIRA, F.G.K., BORGES G.S.C., COPETTI C., DI PIETRO P.F., NUNES E.C., FETT, R. Phenolic compounds and antioxidant activity of the apple flesh and peel of eleven cultivars grown in Brazil. **Scientia Horticulturae**, 128, 261–266, 2011.

WAY, R.D.; ALDWINCKLE, H.S.; LAMB, R.C.; REJMAN, A.; SANSAVANI, S.; SHEN, T; WATKINS, R.; WESTWOOD, M.N.; YOSHIDA, T. Apples (*Malus*). In: Moore, J.N.; Ballington, J.R. (Ed.). Genetics resources of temperate fruit and nut crops. Wageningen: **International Society for Horticultural Science**, 1.62, 1990.

WHITAKER, JR.; CHANG, LY. Os recentes avanços na química de escurecimento enzimático. **Anais...** do Simpósio "O escurecimento enzimático e sua prevenção". Em YL Chang & Whitaker JR (Eds.), **Anais...** do Simpósio "O escurecimento enzimático e sua prevenção" (pp. 2-7), 208 Encontro Nacional da American Chemical Society, 21-26, Washington, DC. 1994.

WIJNGAARD, H. H.; BRUNTON, N. The optimisation of solid–liquid extraction of antioxidants from apple pomace by response surface methodology. **Journal of Food Engineering**, 96, 134–140, 2010.

WOJDYLO A.; OSZMIANSKI, J.; LASKOWSKI, P. Polyphenolic compounds and antioxidant activity of new and old apple varieties. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, 56, 6520–6530, 2008.

WU, J.; GAO, H.; ZHAO, L.; LIAO, X.; CHEN, F.; WANG, Z.; HU, X. Chemical compositional characterization of some apple cultivars. **Food Chemistry**, 103, 88-93, 2007.

XIAOWEI, M.; HONGXIA, W.; LIQIN, L.; QUANSHENG, Y.; SONGBIAO, W.; RULIN, Z.; SHANSHAN, X.; YIGANG, Z. Polyphenolic compounds and antioxidant properties in mango fruits. **Scientia Horticulturae**, 129, 102–107, 2011.

YANG, C-P.; FUGITA, S.; ASHRAFUZZMAN, M.D.; NAKAMURA, N.; HAYASHI, N. Purification and characterization of polyphenol oxidase from banana (*Musa sapientum* L.) pulp. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, 48, n. 7, 2.732-2.735, 2000.

ZARDO, D. M.; DANTAS, A. P.; VANZ, R.; WOSIACKI, G.; NOGUEIRA, A. Intensidade de pigmentação vermelha em maçãs e sua relação com os teores de compostos fenólicos e capacidade antioxidativa. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, 29, n. 1, 2009.

ZEMEL, G.P.; SIMS, C.A.; MARSHALL, M.R.; BALABAN, M. Low pH inactivation of polyphenoloxidase in apple juice. **Journal Food Scientia**, 55, 562-563, 1990.

ANEXOS

ANEXO 1 – EPAGRI EMPRESA DE PESQUISA AGROPECUÁRIA E EXTENSÃO – CAÇADOR-SC

EPAGRI Empresa de Pesquisa Agropecuária e Extensão – Caçador - SC



Maçãs Melhoradas Geneticamente



Imagens da EPAGRI e amostras de maçãs analisadas.
Fonte: Arquivo pessoal (2011).

ANEXO 2 – ANÁLISE DO ESCURECIMENTO ENZIMÁTICO

Imagem capturada logo após o corte das fatias de maçãs



Imagens das fatias de maçãs capturada após 12 horas no reator.



Epagri -170/91



Epagri -170/40



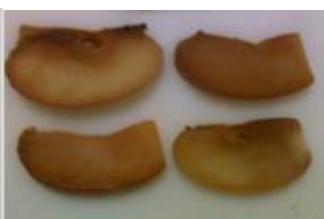
Epagri- 170/25



Jazz



Epagri -M3/02



Monalisa



Epagri -170/65



Epagri -M15/07



Daiane



Epagri- M11/00

Fonte: Arquivo pessoal (2013).

**ANEXO 3 - RESULTADO DA CAPACIDADE ANTIOXIDANTE OBTIDA PELOS
ENSAIOS DE DPPH E FRAP DE POLPA E CASCA DE DEZ
CULTIVARES DE MAÇÃS**

Tabela 2. Resultado da Capacidade Antioxidante obtida pelos ensaios de DPPH e FRAP de polpa e casca de dez cultivares de maçãs.

Amostras	Polpas		Cascas	
	DPPH $\mu\text{mol ET. } 100\text{g}^{-1}$	FRAP $\mu\text{mol Fe}^{+2}. 100\text{g}^{-1}$	DPPH $\mu\text{mol ET. } 100\text{g}^{-1}$	FRAP $\mu\text{mol Fe}^{+2}. 100\text{g}^{-1}$
Epagri-170/91	5141 ^a ± 22,6	8574 ^a ± 14,3	92244 ^a ± 419	45492 ^a ± 261
Epagri-170/25	4291 ^b ± 34,5	6082 ^d ± 21,6	82502 ^b ± 427	49609 ^a ± 314
Epagri-M3/02	3458 ^d ± 41,3	7391 ^b ± 18,4	75044 ^c ± 706	41789 ^{a,b} ± 191
Epagri-170/40	4069 ^c ± 47,9	6500 ^c ± 26,5	13775 ^f ± 172	28518 ^{b,c} ± 123
Epagri-170/65	1709 ^h ± 72,4	5279 ^e ± 37,3	13665 ^{f,g} ± 87,1	29539 ^{b,c} ± 124
Daiane	1456 ⁱ ± 68,9	4933 ^f ± 6,62	12619 ^h ± 71,2	29054 ^c ± 173
Epagri-M15/07	2279 ^f ± 29,2	5456 ⁱ ± 16,0	12858 ^{g,h} ± 173	25316 ^c ± 48,6
Monalisa	1274 ^j ± 46,9	4259 ^h ± 17,3	12086 ^h ± 126	25566 ^c ± 421
Jazz	1856 ^g ± 30,5	4459 ^h ± 27,1	8500 ^d ± 116	19075 ^c ± 252
Epagri-M11/00	2698 ^e ± 63,0	5523 ⁱ ± 56,3	7133 ^e ± 47,7	16130 ^c ± 48,4

Resultados como média ± desvio padrão de três repetições.

Resultados expressos em base seca (BS).

a-j Diferentes letras sobrescritas entre cultivares denotam diferenças significativas (teste de Tukey, p <0,05).

ET - Equivalente Trólox.

ANEXO 4 – QUANTIDADE DE COMPOSTOS FENÓLICOS TOTAIS EM POLPAS E CASCAS DE DEZ CULTIVARES DE MAÇÃS

Tabela 3. Quantidade de Compostos Fenólicos Totais em polpas e cascas de dez cultivares de maçãs.

Amostras	Polpas		Cascas	
	Fenólicos mg EAG. 100g ⁻¹	Amostras	Fenólicos mg EAG. 100g ⁻¹	
Epagri- 170/91	674 ^a ± 5,32	Epagri- 170/91	3735 ^a ± 16,5	
Epagri- M3/02	582 ^b ± 0,670	Epagri- 170/25	3361 ^{a b} ± 7,65	
Epagri- M11/00	529 ^c ± 3,34	Epagri- M3/02	2997 ^{a b c} ± 21,6	
Epagri- 170/40	519 ^c ± 1,16	Epagri- 170/65	2241 ^{b c d} ± 8,69	
Epagri- M15/07	474 ^f ± 5,48	Daiane	2136 ^d ± 5,41	
Jazz	467 ^{f g} ± 2,92	Monalisa	2099 ^{c d} ± 9,19	
Epagri- 170/25	459 ^{g h} ± 9,75	Epagri- 170/40	1902 ^{c d} ± 9,54	
Epagri- 170/65	452 ^h ± 2,41	Epagri- M15/07	1697 ^d ± 9,51	
Monalisa	426 ^c ± 1,74	Jazz	1684 ^d ± 18,9	
Daiane	402 ^d ± 6,14	Epagri- M11/00	1087 ^d ± 5,61	

Resultados como média ± desvio padrão de três repetições.

Resultados expressos em base seca (BS).

a-h Diferentes letras sobrescritas entre cultivares denotam diferenças significativas (teste de Tukey, p<0,05).

EAG- Equivalente Ácido Gálico.

ANEXO 5- TEOR DE ANTOCIANINAS DE CASCAS

Tabela 4. Teor de Antocianinas de dez cultivares de maçãs.

Amostras	TAC (mg cy-3-gal. 100 g⁻¹)
Epagri-M3/02	319 ^a ± 7,60
Epagri-170/25	194 ^b ± 2,07
Epagri-170/65	182 ^c ± 0,70
Epagri-170/91	142 ^d ± 2,33
Jazz	91,0 ^e ± 4,22
Monalisa	79,0 ^f ± 3,78
Daiane	67,0 ^g ± 2,21
Epagri-170/40	62,0 ^g ± 0,01
Epagri-M15/07	29,0 ^h ± 1,34
Epagri-M11/00	6,00 ⁱ ± 0,31

Resultados expressos em base seca (BS) e como média ± desvio padrão de três repetições. TAC- Teor de Antocianina. (a- i) Diferentes letras sobrescritas entre cultivares denotam diferenças significativas (teste de Tukey, p<0,05).

ANEXO 6- TEOR DE VITAMINA C EM POLPAS DE MAÇÃS

Tabela 5. Teor de vitamina C de dez cultivares de maçãs.

Amostras	vitamina C (mg AA. 100 g⁻¹)
Epagri-170/25	7,8 ^a ± 0,1
Epagri-170/91	4,5 ^b ± 0,1
Jazz	3,8 ^c ± 0,4
Epagri-170/40	3,4 ^c ± 0,1
Epagri-170/65	2,8 ^e ± 0,1
Daiane	2,5 ^e ± 0,1
Epagri-M15/07	2,4 ^{d e} ± 0,1
Epagri-M3/02	2,0 ^{d f} ± 0,1
Monalisa	1,7 ^f ± 0,1
Epagri-M11/00	1,6 ^f ± 0,1

Resultados expressos em base seca (BS) e como média ± desvio padrão de três repetições. AA- Ácido Ascórbico. (a- i) Diferentes letras sobrescritas entre cultivares denotam diferenças significativas (teste de Tukey, p<0,05).

ANEXO 7 – ATIVIDADE DA ENZIMA POLIFENOLOXIDASE (APPO) DE DEZ CULTIVARES DE MAÇÃS

Tabela 6. Atividade da enzima Polifenoloxidase (APPO) de dez cultivares de maçãs.

Amostra	U. (min. g)⁻¹
Epagri- 170/91	9 ^a ± 12,2
Epagri- 170/40	15 ^{a b} ± 2,3
Epagri- 170/25	17 ^{a b} ± 6,1
Jazz	19 ^{a b} ± 4,6
Epagri- 170/65	21 ^{a b} ± 2,8
Epagri- M15/07	23 ^{a b} ± 9,2
Epagri- M3/02	24 ^{a b} ± 6,9
Daiane	25 ^{a b c} ± 4,6
Epagri- M11/00	28 ^{b c} ± 2,3
Monalisa	41 ^c ± 2,3

Resultados como média ± desvio padrão de três repetições.

Resultados expressos em base úmida (BU).

a-c Diferentes letras sobrescritas entre cultivares denotam diferenças significativas (teste de Tukey, p <0,05).

U - unidade de atividade da Polifenoloxidase. Uma unidade de U é definida como o aumento de 0,001 na absorbância por minuto/g de amostra (U. (min. g)⁻¹).

ANEXO 8 – ANÁLISE DA COR E % DE ESCURECIMENTO DE DEZ CULTIVARES DE MAÇÃS

Tabela 7. Parâmetros de cor a*, b* e L*.

Amostras	Parâmetros de cor antes			Parâmetros de cor após 12 horas		
	L*	a*	b*	L*	a*	b*
Jazz	60,6	1,7	22,9	43,8	12,6	23,3
Daiane	63,1	-0,8	19,8	45,9	9,8	31,7
Monalisa	62,6	-0,2	18,6	40,6	10,2	20,5
Epagri-M11/00	65,9	0,1	18,9	41,3	11,4	25,2
Epagri-170/25	63,6	3,1	19,9	61,1	2,0	21,7
Epagri-M15/07	57,0	-1,9	12,7	34,8	13,4	19,0
Epagri-170/91	60,2	-0,6	12,4	50,8	3,0	13,4
Epagri-M3/02	58,7	-1,5	15,3	45,5	9,5	27,8
Epagri-170/65	62,4	-1,0	15,6	53,9	6,4	22,6
Epagri-170/40	65,9	1,1	17,5	57,3	8,2	26,9

Análise da cor e % de escurecimento de 10 cultivares de maçãs.
Resultados expressos em base úmida (BU).

ANEXO 9 – ACIDEZ TOTAL TITULÁVEL (ATT) DE DEZ CULTIVARES DE MAÇÃS

Tabela 8. Acidez Total Titulável (ATT) de dez cultivares de maçãs.

AMOSTRAS	ATT (g AM. 100 g ⁻¹)
Epagri-170/91	0,6 ^a ± 0,1
Epagri-170/25	0,5 ^b ± 0,0
Epagri-170/40	0,4 ^c ± 0,0
Epagri-170/65	0,4 ^c ± 0,0
Jazz	0,4 ^c ± 0,0
Daiane	0,3 ^d ± 0,0
Epagri-M15/07	0,2 ^e ± 0,0
Monalisa	0,2 ^e ± 0,0
Epagri-M3/02	0,1 ^e ± 0,1
Epagri-M11/00	0,1 ^f ± 0,0

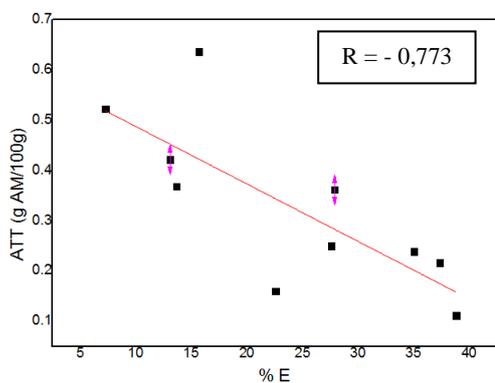
Resultados como média ± desvio padrão de três repetições.

Resultados expressos em base úmida (BU).

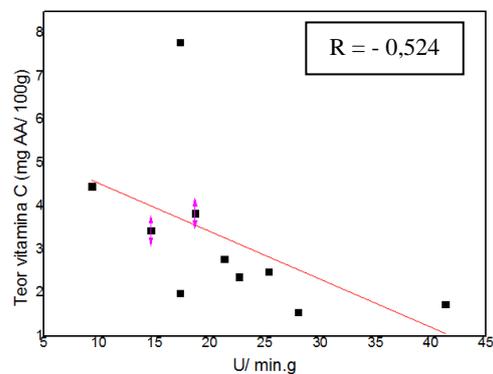
a-f Diferentes letras sobrescritas entre cultivares denotam diferenças significativas (teste de Tukey, p <0,05).

ATT- Acidez Total Titulável.

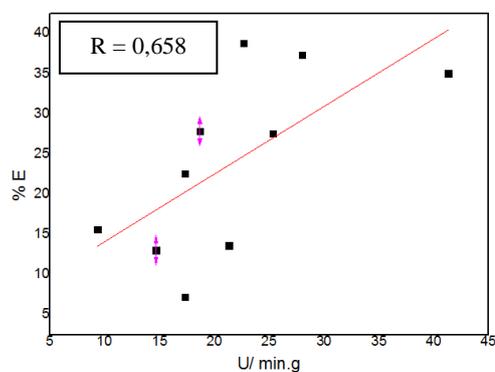
ANEXO 10 – CORRELAÇÃO



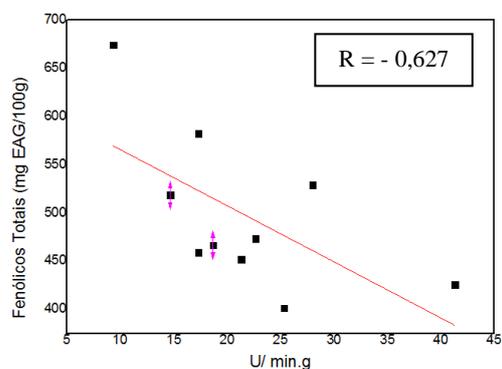
(A) Correlação entre % E e ATT.



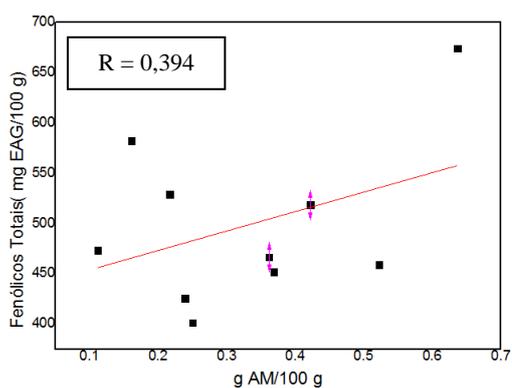
(B) Correlação entre APPO e vitamina C.



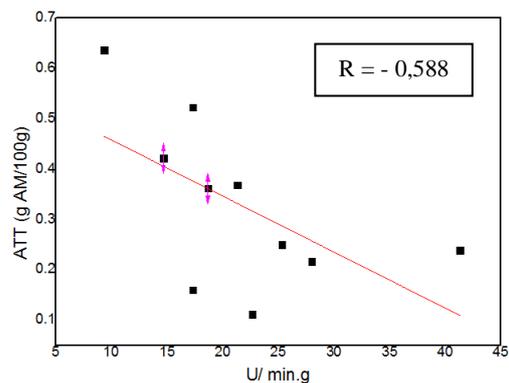
(C) Correlação entre APPO e % E.



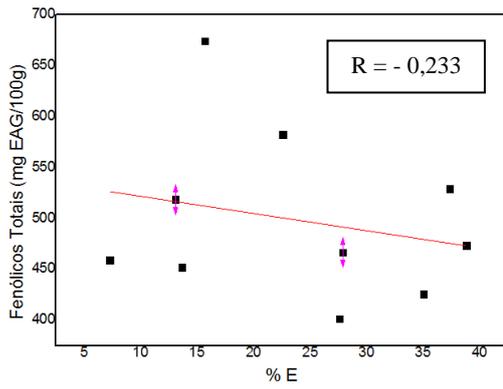
(D) Correlação entre APPO e FT.



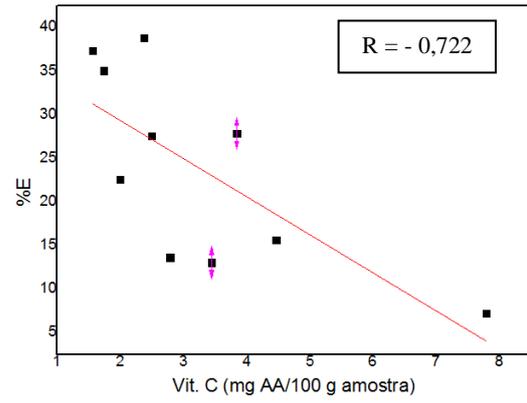
(E) Correlação entre FT e ATT.



(F) Correlação entre APPO e ATT.



(G) Correlação entre FT e % E.



(H) Correlação entre vitamina C e % E.