



UNIVERSIDADE FEDERAL DO CEARÁ
CENTRO DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS
DEPARTAMENTO DE BIOQUÍMICA E BIOLOGIA MOLECULAR
CURSO DE AGRONOMIA

ANTONIO ARISTIDES PEREIRA GOMES FILHO

CONTEÚDO DE BIOATIVOS DURANTE O DESENVOLVIMENTO DA
ACEROLA BRS 238 (FRUTACOR)

FORTALEZA - CE

2020

ANTONIO ARISTIDES PEREIRA GOMES FILHO

CONTEÚDO DE BIOATIVOS DURANTE O DESENVOLVIMENTO DA ACEROLA
BRS 238 (FRUTACOR)

Trabalho de Conclusão de Curso apresentado ao curso de Agronomia do Centro de Ciências Agrárias da Universidade Federal do Ceará, como requisito parcial à obtenção do título de Engenheiro Agrônomo.

Orientadora: Prof^ª. Dr^ª. Maria Raquel Alcântara de Miranda

FORTALEZA - CE

2020

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação
Universidade Federal do Ceará
Biblioteca Universitária
Gerada automaticamente pelo módulo Catalog, mediante os dados fornecidos pelo(a) autor(a)

G612c Gomes Filho, Antonio Aristides Pereira.
Conteúdo de bioativos durante o desenvolvimento da acerola BRS 238 (Frutacor) / Antonio Aristides Pereira Gomes Filho. – 2020.
58 f. : il. color.

Trabalho de Conclusão de Curso (graduação) – Universidade Federal do Ceará, Centro de Ciências Agrárias, Curso de Agronomia, Fortaleza, 2020.
Orientação: Profa. Dra. Maria Raquel Alcântara de Miranda.

1. Malpighia emarginata DC. 2. Maturação. 3. Atividade enzimática. I. Título.

CDD 630

ANTONIO ARISTIDES PEREIRA GOMES FILHO

CONTEÚDO DE BIOATIVOS DURANTE O DESENVOLVIMENTO DA ACEROLA
BRS 238 (FRUTACOR)

Trabalho de Conclusão de Curso apresentado
ao curso de Agronomia do Centro de
Ciências Agrárias da Universidade Federal
do Ceará, como requisito parcial à obtenção
do título de Engenheiro Agrônomo.

Aprovado em: 30/06/2020.

BANCA EXAMINADORA

Prof^ª. Dr^ª. Maria Raquel Alcântara de Miranda (Orientadora)
Universidade Federal do Ceará (UFC)

Ana Talita Adeodato Carvalho Pontes
Pesquisadora da Amway do Brasil

Prof^ª. Dr^ª. Luciana de Siqueira Oliveira
Universidade Federal do Ceará (UFC)

M. Sc. João Alves Ferreira Pereira
Universidade Federal do Ceará (UFC)

A minha avó (*in memoriam*), aos meus
familiares e amigos.

AGRADECIMENTOS

A essa força maior que rege o universo de forma majestosa.

A Universidade Federal do Ceará e ao Centro de Ciências Agrárias, por me proporcionarem um ensino público e de qualidade durante toda a minha graduação.

Ao CNPq, pela concessão da bolsa durante todos esses anos como bolsista de iniciação científica.

Ao INCT Frutos Tropicais e a EMBRAPA – Agroindústria Tropical, em especial ao Dr. Carlos Farley, pelo fornecimento dos frutos utilizados na pesquisa.

A minha orientadora, Dr^a Raquel Miranda, pela excelente orientação, por ser uma fonte de inspiração para mim, por todos os ensinamentos, incentivo, paciência e acima de tudo por ter sido sempre muito justa comigo ao longo de todos esses anos de colaboração.

Aos membros da banca examinadora, pelas valiosas colaborações e sugestões.

Aos grupos que dos fiz parte durante a graduação e as pessoas que neles conheci, Laboratório de Bioquímica e Fisiologia Pós-Colheita de Frutos (LABFRUTOS), Laboratório do Semiárido (LABSAR), Programa Residência Agrária (PRA), Grupo Agroecológico da UFC (GAUFC) e Centro Acadêmico Dias da Rocha, por me ajudarem a construir o tipo de profissional que pretendo ser.

Aos meus amigos do LABFRUTOS, em especial ao João Ferreira, por todos os ensinamentos e ajuda durante todos esses anos.

A Andreza Raquel, pela amizade e ajuda na escrita desse trabalho.

A minha família, em especial a minha irmã Stéffany Maia, por todo o esforço que fez para me ajudar a chegar até aqui.

Aos amigos que fiz durante a graduação e que foram essenciais durante a minha graduação. Em especial a Laís Cavalcante, Mariane Oliveira, Jarlane Viana, Luíza Rayol, Rosângela Lima, Bruna Weida, Gabriella Katarina e Igor Lopes.

A Andréa Diógenes, minha mais antiga e fiel amiga.

Aos demais, que de forma direta ou indireta participaram na construção desse trabalho ou estiveram juntos comigo durante a minha graduação.

“Se não houver frutos,
valeu a beleza das flores;
se não houver flores,
valeu a sombra das folhas;
se não houver folhas,
valeu a intenção da semente.”

- Henfil

RESUMO

A acerola é um fruto tropical, climatérico e possui um valor socioeconômico muito importante no Brasil, onde encontrou condições favoráveis para sua propagação. Grande parte do interesse na produção comercial desse fruto vem do alto conteúdo de vitamina C que este possui. Porém, além da vitamina C, este fruto é rico em outros compostos bioativos como carotenoides, polifenóis como flavonoides e antocianinas e também possui características físico-químicas e químicas interessantes do ponto de vista nutricional. O objetivo deste trabalho foi determinar o conteúdo de bioativos e a atividade de enzimas do metabolismo da vitamina C e dos compostos fenólicos durante o desenvolvimento da acerola BRS 238 (Frutacor). Frutos foram colhidos em cinco diferentes estádios de maturação e avaliados quanto as características físico-químicas e químicas, vitamina C, atividade de enzimas do metabolismo de Vitamina C, polifenóis extraíveis totais, flavonoides amarelos, antocianinas totais, e atividade de enzimas do metabolismo de compostos fenólicos. Durante o desenvolvimento desses frutos houve um aumento na relação SS/AT e conseqüentemente a isso, aumento no dulçor do fruto, uma queda no conteúdo de clorofila e conseqüentemente aumento no conteúdo de carotenoides, um declínio no conteúdo de vitamina C e polifenóis extraíveis totais (PET). Apesar da redução dos PET, o conteúdo de flavonoides amarelos e antocianinas totais mostraram um aumento evidente com o amadurecimento, que pode ter sido causado pela degradação de clorofila e conseqüente aparecimento ou síntese desses compostos. A atividade das enzimas do metabolismo da vitamina C, ascorbato oxidase (AO) e peroxidase do ascorbato (APX) diminuíram com o amadurecimento. Para atividade de enzimas do metabolismo de compostos fenólicos houve um aumento na atividade da fenilalanina amônia liase (PAL) durante o amadurecimento, enquanto a atividade da polifenoloxidase (PPO) teve sua atividade reduzida. Apesar da redução de vitamina C e PET durante o desenvolvimento, os frutos da aceroleira BRS 238 apresentaram alto conteúdo de compostos bioativos.

Palavras-chave: *Malpighia emarginata* DC; Maturação; Atividade enzimática.

ABSTRACT

Acerola is a tropical fruit, climacteric fruit and has a very important socio-economic value in Brazil, where it found favorable conditions for its propagation. Much of the interest in commercial production of this fruit comes from the high content of vitamin C in it. However, in addition to vitamin C, this fruit is rich in other bioactive compounds such as carotenoids, polyphenols such as flavonoids and anthocyanins, and also has interesting physicochemical and chemical characteristics from the nutritional point of view. The objective of this work was to determine the bioactive content and enzyme activity of the metabolism of vitamin C and phenolic compounds during the development of acerola BRS 238 (Frutacor). Fruits were harvested at five different ripening stages and evaluated for physicochemical and chemical characteristics, vitamin C, vitamin C metabolism enzymes activity, total extractable polyphenols, yellow flavonoids, total anthocyanins, and enzyme activity of phenolic compounds metabolism. During the development of these fruits, there was an increase in the sweetness of the fruit, a decrease in the content of chlorophyll, and a consequent increase in the content of carotenoids, a decline in the content of vitamin C, and total extractable polyphenols (PET). Despite the reduction in PET, the content of yellow flavonoids and total anthocyanins showed an evident increase with ripening, which may have been caused by the degradation of chlorophyll and the consequent appearance or synthesis of these compounds. The activity of the enzymes of vitamin C metabolism, ascorbate oxity (AO) and ascorbate peroxidase (APX) decreased with maturation. For enzyme activity of phenolic compounds metabolism there was an increase in phenylalanine ammonium liasase (PAL) activity during maturation, while polyphenoloxidase (PPO) activity had its activity reduced. Despite the reduction of vitamin C and PET during development, the fruits of BRS 238 had a high content of bioactive compounds.

Keywords: *Malpighia emarginata* DC; Maturation; Enzyme activity.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 – Aspectos botânicos da aceroleira (<i>Malpighia emarginata</i> DC).....	18
Figura 2 – Estádios de maturação dos frutos com base na coloração da casca e tamanho dos frutos.....	28
Figura 3 – Conteúdo de sólidos solúveis (SS) durante o desenvolvimento da acerola BRS 238 (Frutacor).....	35
Figura 4 – Acidez titulável durante o desenvolvimento da acerola BRS 238 (Frutacor).....	36
Figura 5 – Relação sólidos solúveis/acidez titulável durante o desenvolvimento da acerola BRS 238 (Frutacor).....	37
Figura 6 – pH durante o desenvolvimento da acerola BRS 238 (Frutacor).....	38
Figura 7 – Conteúdo de clorofila a e b e carotenoides durante o desenvolvimento da acerola BRS 238 (Frutacor).....	39
Figura 8 – Conteúdo vitamina C total, ácido ascórbico (AsA) e ácido dehidroascórbico (DHA) durante o desenvolvimento da acerola BRS 238 (Frutacor).....	40
Figura 9 – Atividade das enzimas ascorbato oxidase (AO) e peroxidase do ascorbato (APX) durante o desenvolvimento da acerola BRS 238 (Frutacor).....	41
Figura 10 – Conteúdo de polifenóis extraíveis totais (PET), flavonoides amarelos e antocianinas totais durante o desenvolvimento da acerola BRS 238 (Frutacor).....	43
Figura 11 – Atividade da fenilalanina amônia liase (PAL) e polifenoloxidase (PPO) durante o desenvolvimento da acerola BRS 238 (Frutacor).....	45

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

°C	Grau Celsius
µg	Microgramas
µmol	Micromol
AO	Ascorbato oxidase
APX	Peroxidase do ascorbato
AsA	Ácido ascórbico
cm	Centímetros
CO ₂	Dióxido de carbono
cv.	Cultivar
DHA	Dehidroascorbato
EAG	Equivalentes de ácido gálico
EDTA	Ácido etilenodiamino tetra-acético
ERO's	Espécies reativas de oxigênio
h	Horas
ha	Hectare
kg	Quilogramas
M	Molar
MF	Massa Fresca
MDHA	Monodehidroascorbato
mg	Miligramas
min	Minutos
mL	Mililitros
mM	Milimolar
NaOH	Hidróxido de sódio
nm	Nanômetros
P	Proteína
PAL	Fenilalanina amônia liase
PET	Polifenóis extraíveis totais
pH	Potencial hidrogeniônico

PPO	Polifenoloxidase
UA	Unidade de atividade enzimática
x g	Força Centrífuga Relativa
μL	Microlitros

LISTA DE SÍMBOLOS

%	Porcentagem
-	Menos

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO	16
2. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	17
2.1 Origem e aspectos botânicos da aceroleira	17
2.2 Importância socioeconômica da aceroleira	18
2.3 Caracterização agronômica da aceroleira	19
2.4 Fisiologia pós-colheita de acerola	22
2.5 Caracterização físico-química e bioquímica da aceroleira	23
3. MATERIAL E MÉTODOS	28
3.1 Material	28
3.2 Análises físico-químicas e químicas	29
3.2.1 Sólidos solúveis (SS)	29
3.2.2 Acidez titulável (AT)	29
3.2.3 Relação sólidos solúveis e acidez titulável (SS/AT)	29
3.2.4 Potencial hidrogeniônico (pH)	29
3.2.5 Clorofila e carotenoides	29
3.3 Avaliações do metabolismo de vitamina C	30
3.3.1 Vitamina C total, reduzida (AsA) e oxidada (DHA)	30
3.3.2 Proteínas solúveis totais	30
3.3.3 Atividade da Ascorbato oxidase (AO, EC 1.10.3.3)	31
3.3.4 Atividade da Peroxidase do ascorbato (APX, EC 1.11.1.11)	31
3.4 Avaliações do metabolismo de compostos fenólicos	32
3.4.1 Determinação de polifenóis extraíveis totais (PET)	32
3.4.2 Flavonoides amarelos e antocianinas totais	32
3.4.3 Atividade da Fenilalanina amônia liase (do inglês, PAL, EC 4.3.1.24)	33
3.4.4 Atividade da Polifenoloxidase (PPO, EC 1.14.18.1)	33
3.5 Delineamento experimental e Análise estatística	33
4. RESULTADOS E DISCUSSÃO	35
4.1 Análises físico-químicas e químicas durante o desenvolvimento de acerola BRS238	35
4.2 Pigmentos durante o desenvolvimento de acerola BRS 238	38
4.3 Metabolismo de vitamina C durante o desenvolvimento de acerola BRS 238	39
4.4 Metabolismo de compostos fenólicos durante o desenvolvimento de acerola BRS 238	42

5. CONCLUSOES	46
6. REFÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	47

1. INTRODUÇÃO

O Brasil é o maior produtor, exportador e consumidor mundial de acerolas, que é produzida em todas as regiões do Brasil, com ênfase para o Nordeste, onde encontrou condições favoráveis ao seu desenvolvimento. Nesta região, se destaca o estado de Pernambuco como o maior produtor (RITZINGER; RITZINGER, 2011; CALGARO; BRAGA, 2012; IBGE, 2018; AGRIANUAL, 2019).

As primeiras variedades propagadas vegetativamente para o nordeste brasileiro foram Flor Branca, Okinawa e Sertaneja (RITZINGER; RITZINGER, 2011). Desde então, grandes avanços têm sido feitos para a disponibilidade de novas variedades como Cabocla, Rubra, Tropicana, Morena, Mulata, Apodi, Cereja, Frutacor, Roxinha e Jaburu, as quais além de serem ricas em compostos bioativos e mais adequadas para uso *in natura*, são mais adequadas para o processamento em polpa e suco e extração de compostos bioativos como a vitamina C e outros fotoquímicos (RITZINGER, 2018).

A acerola é uma fonte de vários nutrientes, como açúcares e ácidos orgânicos como o málico, cítrico e tartárico (RIGUETTO et al., 2005). Contudo, o principal interesse comercial da acerola é proveniente do seu alto conteúdo de ácido ascórbico ou vitamina C com algumas variedades contendo de 1.500 à 4.500 mg/100g, cerca de 50 a 100 vezes as concentrações encontradas em frutos cítricos (MOREIRA et al., 2009; ALMEIDA et al., 2014). Além da considerável quantidade de vitamina C, os frutos da aceroleira também são boas fontes de compostos fenólicos e carotenoides, os quais atuam na pigmentação do fruto e possuem potencial antioxidante (CALGARO; BRAGA, 2012; MARIANO-NASSER et al., 2017).

As propriedades da acerola e seu valor nutricional dependem de vários fatores, como condições edafoclimáticas, práticas culturais, estágio de maturação, processamento e armazenamento pós-colheita (DELVA; SCHNEIDER, 2013). Apesar dos vários estudos realizados sobre o conteúdo de bioativos em acerola, porém ainda há muito o que se estudar sobre o conteúdo de bioativos durante o desenvolvimento de frutos das novas variedades cultivadas no estado do Ceará. Assim, esse trabalho teve como objetivo determinar o conteúdo de bioativos e a atividade de enzimas do metabolismo da vitamina C e dos compostos fenólicos durante o desenvolvimento de frutos do clone de aceroleira BRS 238 (Frutacor) produzidas no estado do Ceará.

2. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

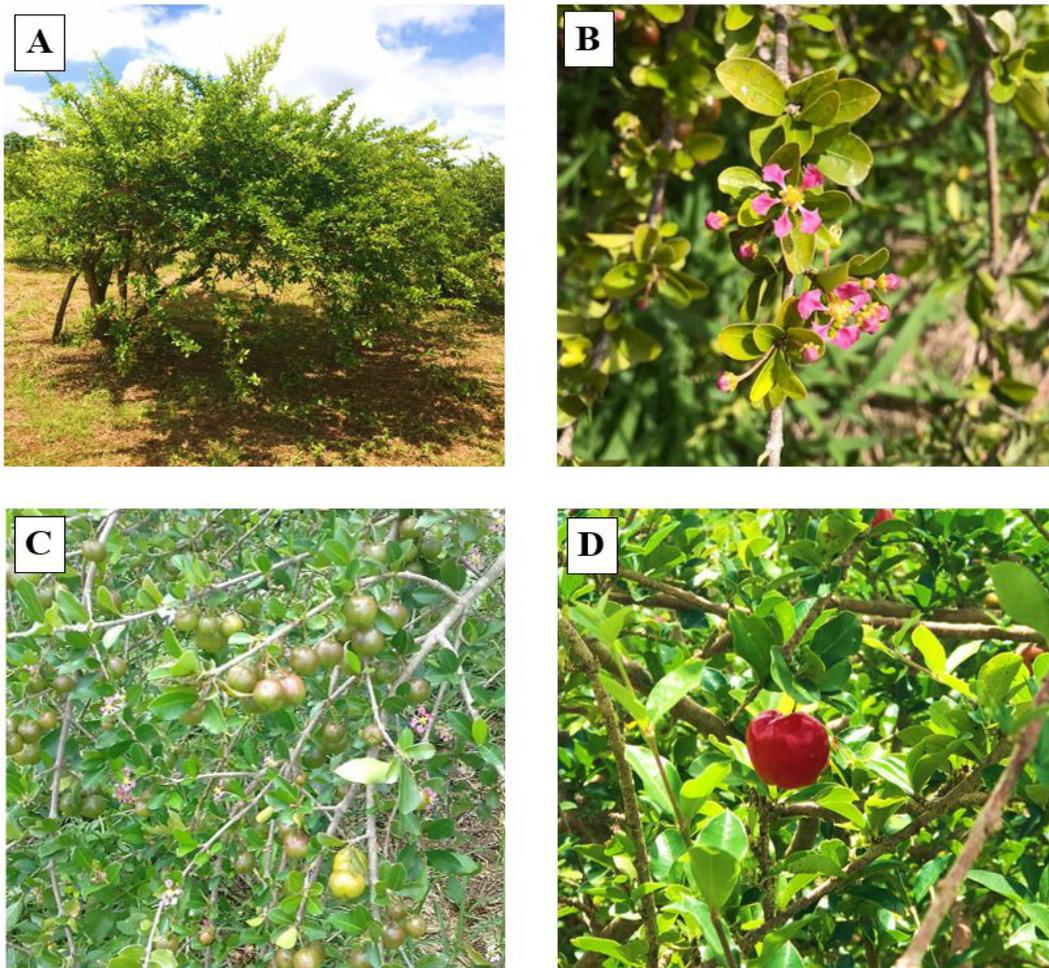
2.1 Origem e aspectos botânicos da aceroleira

A aceroleira, também chamada de cereja das Antilhas é uma planta frutífera nativa das Ilhas do Caribe, América Central e Norte da América do Sul (RITZINGER; RITZINGER, 2011). A aceroleira foi introduzida no Brasil inicialmente, no estado de Pernambuco, pela Universidade Federal Rural de Pernambuco (UFRPE), em 1956 através da professora Maria Celene C. de Almeida, por meio de sementes oriundas de Porto Rico, de onde se espalhou para o Nordeste e para outras regiões do País (CALGARO; BRAGA, 2012; COUCEIRO, 1985).

A aceroleira (*Malpighia emarginata* DC) pertence ao gênero *Malpighia* da família Malpighiaceae e trata-se de um arbusto com crescimento que varia de prostrado a ereto, copa aberta ou compacta (RITZINGER; RITZINGER, 2011) e que pode atingir de 2,5 a 4 m de altura tendo uma raiz pivotante (Figura 1.A) (ARAÚJO; MINAMI, 1994; SAZAN et al., 2014). As folhas são elíptico-lanceoladas com 2,5 a 7,5 cm de comprimento, opostas com pecíolo curto, pequenas, de coloração verde-escura e brilhante na face superior e verde pálida na face inferior (JUNQUEIRA et al., 2016).

As flores são hermafroditas e os botões florais iniciam a abertura entre 4 e 5 h da manhã (Figura 1.B). Os frutos são drupas tricarpeladas com casca ou epicarpo fino, que quando imaturo normalmente apresenta-se com cor verde que, quando maduro pode variar de vermelho a vermelho-púrpura (Figuras 1.C e D). O mesocarpo ou polpa, é carnoso e suculento, com coloração amarela ou avermelhada e é responsável por até 80% da massa total do fruto. O endocarpo possui a textura de pergaminácea e superfície reticulada, possuindo até três sementes nesse fruto (RITZINGER; RITZINGER, 2011; ALMEIDA; LOPES; OLIVEIRA, 2002). A formação do fruto é rápida, variando de 21 a 32 dias desde o florescimento até a maturação, verifica-se de quatro a sete picos de frutificação, espaçados por pequenos períodos vegetativos (LOPES; PAIVA, 2002). O peso pode variar de 3 a 16 g e sua forma pode variar entre redonda, oval ou achatada (RITZINGER; RITZINGER, 2011).

Figura 1* – Aspectos botânicos da aceroleira (*Malpighia emarginata* DC) A: Planta, B: Flores, C: Frutos verdes, D: Fruto maduro



* Variedade não identificada. Fonte: AUTOR, 2020.

2.2 Importância socioeconômica da aceroleira

Em 2017, o Brasil foi o terceiro maior produtor mundial de frutas com uma produção de 40.851.710 milhões de toneladas em uma área plantada de 2,627 milhões de ha, atrás apenas da China e Índia (ANUÁRIO BRASILEIRO HORTI & FRUTI, 2019). Nesse ano, apesar de ter produzido o terceiro maior volume de frutas do mundo, o Brasil ocupou o 23º no ranking dos exportadores globais. Porém, o país possui uma enorme capacidade de aumentar sua exportação (ANUÁRIO BRASILEIRO DE FRUTICULTURA, 2018).

A fruticultura tem uma enorme importância social, pois garante a fixação do homem no campo, gera empregos diretos e indiretos e garante renda, porém exige a presença constante nas áreas de cultivo, visto que esta espécie produz de quatro a seis safras anuais

(SOUZA et al., 2006). A aceroleira é cultivada em todos os estados brasileiros, com algumas restrições para região sul, por possuir temperaturas extremamente baixas no inverno (RITZINGER; RITZINGER, 2011). Apesar de haver cultivos comerciais em Porto Rico, Estados Unidos, Cuba e Havaí, o Brasil é o maior produtor, consumidor e exportador mundial de acerola com produtividade média nos pomares de 29,65 t/ha/ano, equivalente a 59,3 kg/planta/ano (AGRIANUAL, 2010; CALGARO; BRAGA, 2012).

O Nordeste brasileiro, no ano de 2012 tinha posição de destaque como a maior região produtora de acerola brasileira, possuindo uma área cultivada de 3.100 ha, participando com 64% de toda a produção nacional (CALGARO; BRAGA, 2012). Furlaneto e Nasser (2015) relatam que a área cultivada no Brasil é estimada por volta de 10.000 ha, destacando-se o Pernambuco, Ceará, Bahia e Paraíba que juntos detém 60% da produção nacional. No Ceará, em 2013, a produção foi de 16.527 toneladas para uma área de 2.854 ha (ADECE, 2013).

Quanto ao destino da produção, cerca de 60% permanecem no mercado interno e 40% vão para o mercado externo (OLIVEIRA; SOARES FILHO, 1998), especialmente para o Japão, Europa e Estados Unidos (COELHO et al., 2003). Hoje, a comercialização de acerola no mercado interno apresenta a seguinte distribuição: 46% destinam-se à indústria de processamento e 54% destinam-se ao mercado de consumo da fruta fresca (CALGARO; BRAGA, 2012). As indústrias processadoras de frutas tropicais processam, no Brasil, cerca de 34,40 mil toneladas de acerolas por ano, o que equivale a 7,16% do total de frutas processadas por estas empresas. As acerolas processadas geram, aproximadamente, 18 mil toneladas de sucos e polpas por ano, concentrando-se esta produção na Região Nordeste (ASTN & APEX, 2001).

2.3 Caracterização agrônômica da aceroleira

A aceroleira é uma planta rústica e por isso, deve-se evitar o plantio em solos alcalinos devido à dificuldade de assimilação de macro e micronutrientes, assim recomenda-se o uso de solos de fertilidade média e os francos argilosos. (MARINO NETTO, 1986). Esta possui tolerância a seca, por curtos períodos, porém, sabe-se que, locais em que a precipitação é inferior a 1000 mm por ano pode haver danos como a ocorrência de frutos pequenos, enrugados e com baixos teores de vitamina C, sendo necessário a complementação com a irrigação. Regimes pluviométricos variando entre 1200 e 1600 mm anuais, bem distribuídos são ideais para uma maior produção, frutos de maior tamanho e de melhor qualidade (CALGARO; BRAGA, 2012).

Como é uma planta de origem tropical e subtropical, para o seu desenvolvimento e produção, necessita de temperaturas entre 15 e 32 °C, com médias anuais próximas a 27 °C (CALGARO e BRAGA, 2012). A planta é exigente quanto à insolação e a radiação solar interfere diretamente na produção e na qualidade dos frutos (CALGARO; BRAGA, 2012).

A aceroleira pode ser propagada via sexuada (através de sementes) ou assexuadamente por métodos como enxertia, alporquia, mergulhia ou estaquia. Se propagada através de sementes exhibe algumas desvantagens como: segregação hereditária, baixa taxa de germinação, devido a fatores como a má formação do óvulo, a degeneração do saco embrionário e a falta de fertilização do óvulo, entre outras. O processo de propagação assexuada é o método mais eficiente quando se busca assegurar as características desejáveis da planta selecionada (SOBRINHO; BANDEIRA; ALVES, 2001; COSTA et al. 2003).

A desuniformidade na floração da aceroleira resulta na presença de flores e frutos em diversos estádios de desenvolvimento numa mesma planta. Isso dificulta a identificação do ponto de colheita, que usa a coloração externa como principal critério para estimar o grau de maturação do fruto. O ponto exato da colheita depende do destino do fruto, assim quando a colheita visa à indústria farmacêutica (para a produção de remédios, cápsulas e concentrados para enriquecimento de vitamina C em pó), os frutos devem ser colhidos no início da maturação com cor verde e máximo conteúdo de vitamina C. Quando os frutos serão consumidos íntegros ou processados em polpa e suco, devem ser colhidos com coloração vermelha, mas ainda firmes para suportar o manuseio quando apresentam alto conteúdo de açúcar e baixa acidez, o que indica melhor sabor (CALGARO; BRAGA, 2012).

Uma característica que atrai tanto produtores quanto ao cultivo da aceroleira é o alto conteúdo de vitamina C que os frutos possuem. Portanto, o aumento da produtividade e consequente lucratividade se dá com a utilização de variedades com maior produtividade e conteúdo de vitamina C. Dentro desse contexto surgem os programas de melhoramento genético visando avaliar e selecionar genótipos com alta produtividade adaptados as condições climáticas e sistemas de produções locais, tolerantes a pragas e doenças e que produzam frutos com alto conteúdo de vitamina C (RITZINGER et al., 2003).

Para o desenvolvimento de variedades, tem-se buscado a clonagem via propagação vegetativa de genótipos que reúnem maior número de características agronomicamente desejáveis em comparação com aqueles que possuem grande variabilidade genética como plantas oriundas de semente (RITZINGER; RITZINGER, 2011). Segundo Lopes e Paiva

(2002), o início de estudos de melhoramento genético em aceroleiras se deu na década de 50 em Porto Rico e na Flórida que lançaram variedades como a B-15 e B-17 com sabor azedo e alto conteúdo de vitamina C e a Florida Sweet com sabor doce. Na década de 60, no Havai foram selecionados os acessos J. H. Beaumont, C. F. Rehnborg e F. Harley com sabor ácido e elevado conteúdo de vitamina C e Manoa Sweet, Tropical Ruby e Hawaiian Queen com sabor doce. Os critérios utilizados na seleção foram baseados, principalmente na produtividade, características do fruto e conformação da copa. A variedade Florida Sweet, por exemplo, apresenta frutos grandes (31 mm de diâmetro), com casca espessa, alta produção, conteúdo de vitamina C variando entre 1.500 e 2.000 mg.100g⁻¹, e hábito de crescimento ereto com crescimento aberto (MORTON, 1987).

Lopes e Paiva (2002) salientam que, no Brasil, apenas a partir da década de 90 foi que os trabalhos direcionados para o melhoramento genético de aceroleira começaram, inicialmente conduzidos por instituições de pesquisa nos estados do Pernambuco (IPA e Embrapa Semiárido), Paraíba (EMEPA), Paraná (UEL), Bahia (Embrapa Mandioca e Fruticultura) e no Ceará (Embrapa Agroindústria Tropical).

De maneira geral, foram estabelecidas características desejáveis para a seleção de variedades para consumo "*in natura*", também chamadas de variedades de fruto doce, com frutos de tamanho grande, relação sólidos solúveis/acidez de aproximadamente 10:1, polpa vermelha e consistente, boa palatabilidade, alta relação polpa/semente e a planta deve apresentar copa globular, com boa aeração e pilosidade ausente ou baixa nas folhas. Já as variedades para indústria deve apresentar frutos de tamanho médio ou grande, sólidos solúveis acima de 8%, conteúdo de ácido ascórbico (vitamina C) acima de 1.500 mg.100g⁻¹ de polpa, alta relação polpa/semente, polpa vermelha ou amarela e a planta deve apresentar copa globular, com boa aeração, produtividade acima de 50t/ha e pilosidade baixa ou ausente nas folhas (LOPES; PAIVA, 2002).

A Embrapa Semiárido pautou seu programa de melhoramento basicamente na introdução de germoplasma e teve como principal objetivo introduzir 50 novos acessos e selecionar clones para cultivo nas áreas irrigadas do Nordeste brasileiro. Ao final do estudo, os dados analisados permitiram o lançamento da variedade denominada BRS 152 ou Sertaneja (GONZAGA NETO, 1999).

Em 1995, a Embrapa Agroindústria Tropical iniciou um programa de melhoramento de aceroleiras selecionando 100 plantas que possuíam características desejáveis para planta

e fruto, em um pomar comercial formado a partir de sementes, utilizando o método de seleção massal. Para iniciar o programa de melhoramento com o objetivo de aumentar a frequência de genes ou combinações genéticas desejáveis, foi coletada de cada planta uma amostra de semente, visando a abertura de progênies de polinização livre. Todas as plantas selecionadas também foram multiplicadas assexuadamente via enxertia para instalação de experimentos de avaliação de clones, e via estaquia, para instalação de um jardim clonal (PAIVA et al., 1999).

Em 2003, com base no desempenho das características morfológicas da planta, produção, características físico-químicas, foram selecionados e recomendados para o plantio comercial os clones: BRS 235 ou Apodi, BRS 236 ou Cereja, BRS 237 ou Roxinha e BRS 238 ou Frutacor. Em 2002 e 2004, respectivamente foram lançadas as variedades Cabocla e Rubra pela Embrapa Mandioca e Fruticultura Tropical (RITZINGER; RITZINGER, 2011).

Atualmente, existem mais de 42 variedades de acerola cultivadas no Brasil. As principais são: Apodi, Cabocla, Cereja, Frutacor, Okinawa, Oliver, Rochinha, Rubra e Sertaneja (FUIGUEIREDO NETO et al., 2014).

2.4 Fisiologia pós-colheita de acerola

O desenvolvimento de um fruto pode ser dividido em crescimento, maturação, maturidade fisiológica, amadurecimento e a senescência. Essas fases são definidas pelos processos fisiológicos que as envolvem, porém muitos desses processos são comuns entre as fases, o que acaba por dificultar uma diferenciação entre as mesmas e após a colheita, os frutos continuam sofrendo alterações metabólicas e mantém os processos fisiológicos durante todo o período pós-colheita (TAIZ; ZEIGER, 2009).

Quando se trata de fisiologia pós-colheita de frutos a respiração é o principal processo fisiológico envolvido. A velocidade com que se processa a respiração é um bom indicador do potencial de conservação do fruto após a colheita, uma vez que altas taxas de respiração estão, muitas vezes, relacionadas a à curta vida útil de armazenamento (ANTONIALI et al., 2006; CALBO; MORETTI; HENZ; 2007).

A acerola é caracterizada como fruto climatérico (CARRINGTON; KING, 2002). O etileno é o principal fitormônio responsável pelos eventos que acontecem durante o amadurecimento desses frutos (MORAIS et al., 2008). Estudos mostram que esse processo envolve a expressão de genes específicos, muitos dos quais são dependentes deste hormônio (GIOVANNONI, 2001). Portanto, o processo de amadurecimento é conduzido pelo aumento

da produção de etileno levando a altas taxas respiratórias e metabólicas, as quais conduzem alterações bioquímica, fisiológica e estrutural influenciando na aparência, sabor, textura e aroma, tornando estes mais atrativos para dispersores de sementes (GIOVANNONI, 2004).

A acerola tem uma vida útil limitada de 2 a 4 dias à temperatura ambiente (VENDRAMINI; TRUGO, 2000; SCALON et al., 2004) com uma alta taxa respiratória (900 mL de $\text{CO}_2 \cdot \text{kg}^{-1} \cdot \text{h}^{-1}$), porém baixa produção de etileno ($3 \mu\text{L}$ de $\text{C}_2\text{H}_4 \cdot \text{kg}^{-1} \cdot \text{h}^{-1}$) (CARRINGTON; KING, 2002). Portanto, alternativas de armazenamento, processamento, e tecnologias de pós-colheita são importantes. A refrigeração associada ou não com outras tecnologias como atmosfera controlada é uma importante tecnologia de conservação (ARAÚJO et al., 2009; QUOC et al., 2015). Porém, o processamento do fruto para extração de polpa é uma atividade rentável e de grande importância para a cultura da aceroleira, pois permite que o produto processado seja armazenado por períodos mais longos que o fruto inteiro (SOUZA, 2012).

2.5 Caracterização físico-química e bioquímica da aceroleira

Assim como em outros frutos tropicais, na acerola, ocorrem várias alterações durante o seu desenvolvimento, o amadurecimento e a senescência (OLIVEIRA, 2012). Características do fruto como o conteúdo de vitamina C, bem como coloração, peso e tamanho, sólidos solúveis e pH do suco, além de serem afetados pela desuniformidade genética dos pomares, sofrem influências de diversos fatores como: precipitações pluviais, temperatura, altitude, adubação, irrigação e a ocorrência de pragas e doenças (NOGUEIRA et al., 2002).

Considerando a composição química do fruto maduro, cada 100 gramas apresentam 332 kcal de calorias atribuídas a carboidratos (57,24 g), lipídios (3,2 g) e proteínas (16,94 g) (DEMBITSKY et al., 2011; MARQUES et al., 2013). Já se tratando de conteúdo de sólidos solúveis totais e da acidez titulável encontra-se uma ampla faixa de variação, desde 3,76 a 14,10° Brix para sólidos solúveis e de 0,53 até 2,27% para acidez. O pH da acerola encontra-se na faixa de 2,58 a 3,91 (FREITAS et al., 2006).

Oliveira et al., (2012) avaliando frutos de clones de aceroleira durante o amadurecimento, para avaliar a qualidade pós colheita encontraram valores médios de 6,42 °Brix no estágio mais imaturo até 9,28 °Brix no estágio mais maduro em diferentes clones. Já para acidez, foram encontrados valores variando entre 1,11 até 1,81% em diferentes estádios, em diferentes clones. A relação entre acidez titulável e sólidos solúveis (AT/SS) variou entre 4,67 até 6,14. O pH variou pouco entre os frutos dos clones de aceroleira (2,91

a 3,50). Os valores de vitamina C diminuíram à medida que o fruto se desenvolvia com valores de 3.756,47 em frutos imaturos até 1.200,80 mg.100 g⁻¹ em frutos maduros.

O principal constituinte de importância nutricional encontrado na acerola é a vitamina C com conteúdo que pode variar de 8.628 a 20.000 mg.kg⁻¹ MF em frutos maduros (FIGUEIREDO NETO et al., 2014; SOUZA et al., 2014; MARIANO-NASSER et al., 2017). O ácido ascórbico é particularmente conhecido por seus papéis nas funções fotossintéticas na tolerância ao estresse. Além de possuir outras funções importantes no crescimento e metabolismo como ser cofator enzimático e estar envolvido nos mecanismos de crescimento e divisão da célula. Isso se deve em grande parte à sua capacidade de neutralizar o estresse oxidativo produzido pelo metabolismo celular normal ou estressado, diretamente como um eliminador de espécies reativas de oxigênio (ERO's) (SMIRNOFF, 2000; FOYER; NOCTOR, 2011; BARTOLI et al., 2017). Essa potente capacidade antioxidante se dá pela facilidade que que esta molécula tem de doar elétrons, tornando-a uma molécula muito eficaz como agente redutor dentro dos tecidos vegetais (ZECHMANN, 2011; ZECHMANN; STUMPE; MAUCH, 2011).

Nos tecidos vegetais, esta vitamina pode estar presente na sua forma reduzida como AsA ou oxidada DHA, exibindo atividade biológica em ambas. O corpo humano não produz vitamina C, sendo necessário então ser adquirida através da ingestão pela dieta ou suplementação, pois desempenha diversas funções como produção e manutenção do colágeno, cicatrização, redução da susceptibilidade às infecções, além de sua ação antioxidante (OLIVEIRA, 2008; HAZA et al., 2009). O escorbuto é uma doença causada quando a ingestão de vitamina C é extremamente baixa (5 a 7 mg por dia). Especialistas concordam que 100 mg de vitamina C é o consumo diário médio ideal (PETEYTAVIN, 2017).

O conteúdo de vitamina C pode variar muito e depende de diversos fatores como espécie, variedade e condições de cultivo e colheita, além do amadurecimento (GOMEZ; LAJOLO, 2008). No entanto, o conteúdo do ácido ascórbico tende a diminuir com a maturação e a sua degradação oxidativa pode ser resultante da ação direta da enzima oxidase do ascorbato (AO, EC 1.10.3.3) ou pela ação da enzima peroxidase do ascorbato (APX EC 1.11.1.11) (BARATA-SOARES et al., 2004; CHITARRA; CHITARRA, 2005).

Além da vitamina C, a acerola apresenta outros compostos químicos com potencial benéfico à saúde humana, entre eles tiamina, riboflavina, niacina, fibras, minerais, carotenoides e os compostos fenólicos (DE ROSSO et al., 2008; MEZADRI et al., 2008).

Os compostos fenólicos são metabólitos secundários que desempenham diversas funções nas plantas e o consumo regular de produtos ricos nestes compostos tem sido associado à redução dos riscos de câncer, obesidade, doenças cardiovasculares e outras doenças crônicas (BOEING et al., 2014; AHMAD et al., 2016). Nos frutos, o tipo e a concentração dos compostos fenólicos variam dependendo de aspectos genéticos (gênero, espécie, cv.) bem como de acordo com as condições ambientais (clima e solo) e grau de maturação (LEE; DOSSETT; FINN, 2012).

Dentre os compostos bioativos com ação antioxidante, os polifenóis totais variam entre 9.142 a 26.314 mg equivalentes de ácido gálico $EAG.kg^{-1}$ MF em frutos maduros (SOUZA et al., 2014; MARIANO-NASSER et al., 2017), tendo flavonoides, antocianinas, procianidinas, flavonóis e catequinas como os mais abundantes (DELVA; GOODRICH, 2010; BETAGLION et al., 2015). Os antioxidantes são definidos como substâncias químicas presentes em baixas concentrações, comparados aos metabólitos primários das plantas, tais como proteínas, lipídeos e carboidratos; os quais atrasam ou impedem a oxidação de substratos (ARUOMA, 1999; ALAMED et al., 2009). Além de possuírem ação antioxidante, os compostos fenólicos possuem considerável importância na fisiologia de plantas, participando do crescimento, promovendo proteção contra patógenos e predadores além de, contribuírem para a qualidade sensorial de frutos e vegetais (BALASUNDRAM et al., 2006; ANGELO; JORGE, 2007).

Os flavonóis e antocianinas são compostos fenólicos largamente distribuídos no reino vegetal que influenciam fortemente a qualidade dos frutos, pois contribuem para seu aspecto sensorial e nutricional (BAHORUN et al., 2005; SCALZO et al., 2005). Os flavonóis possuem a coloração branca ou amarela clara e geralmente acompanham as antocianinas em frutos, provavelmente porque apresentam rotas de biossíntese semelhantes, além de atuarem na copigmentação das antocianinas (MELO et al., 2006). Lima et al. (2005) verificaram uma redução nos compostos fenólicos em acerolas com o decorrer do desenvolvimento e em diferentes épocas do ano. Maciel et al. (2010) avaliaram frutos maduros de 18 genótipos de aceroleira cultivado no estado de Pernambuco e relataram conteúdos de flavonoides variando de 44,1 a 108,0 $mg.kg^{-1}$ MF. Souza et al. (2014) encontraram variações de antocianinas e

flavonoides amarelos de 50,7 a 123,7 e 73,6 a 98,2 mg.kg⁻¹ MF, respectivamente, em frutos maduros de três cultivares de aceroleira cultivadas no estado do Ceará.

Uma característica importante da acerola madura é a sua coloração vermelha que depende do conteúdo total e da qualidade de antocianinas. No reino vegetal, as antocianinas são os pigmentos responsáveis por uma variedade de cores que variam do vermelho vivo ao violeta e azul (LIMA et al., 2006). Segundo Lima et al. (2005), o conteúdo de antocianinas em acerolas pode variar de 37,9 até 597,4 mg.kg⁻¹, enquanto Maciel et al. (2010) encontraram valores variando entre 43,5 a 121,3 mg.kg⁻¹ MF. Nos últimos anos, o interesse por esse grupo de pigmento se intensificou uma vez que pesquisas demonstraram que as antocianinas e suas respectivas agliconas são compostos bioativos que possuem atividade antioxidante (OLIVEIRA, 2012).

Os compostos fenólicos são produzidos na via metabólica dos fenilpropanóides, quando há um redirecionamento de carbonos do metabolismo primário a partir do aminoácido fenilalanina, para o metabolismo secundário. A desaminação não oxidativa da L-fenilalanina é catalisada pela enzima fenilalanina amônia liase (PAL, EC 4.3.1.24) e resulta na formação de ácido trans-cinâmico que originará os demais fenilpropanóides (FERRER et al., 2008).

Já a degradação dos compostos fenólicos pode ser realizada de forma não enzimática por oxidação química ou pela atuação de enzimas conhecidas como oxidoredutases (YORUK; MARSHALL, 2003), influenciando diretamente a capacidade antioxidante de frutos e vegetais (MANZOCCO et al., 2000). A atuação dessas enzimas ocorre quando os frutos e vegetais são lesionados mecanicamente durante os procedimentos de colheita, manuseio, embalagem, transporte e armazenamento (CHITARRA; CHITARRA, 2005; JACOMINO et al., 2008).

A principal enzima responsável pela degradação dos compostos fenólicos é a polifenoloxidase (PPO, EC 1.10.1.1) A partir do momento que o tecido vegetal é danificado e ocorre uma perda de compartimentalização, a enzima inicia uma reação de oxidação que leva ao escurecimento (MURATA, NODA e HOMMA, 1995; PARKIN, 2010; LIU et al., 2011). De modo geral, a PPO catalisa a hidroxilação de monofenóis e a oxidação de o-difenol para sua correspondente quinona, na presença de oxigênio. As o-quinonas formadas são instáveis polimerizando-se rapidamente ou reagindo com aminoácidos, peptídeos e proteínas, causando alterações estruturais e funcionais, diminuição do valor nutricional dos alimentos

e dão origem a pigmentos escuros. (ESCRIBANO et al., 1997; YORUK; MARSHALL, 2003; CONCELLÓN et al., 2004).

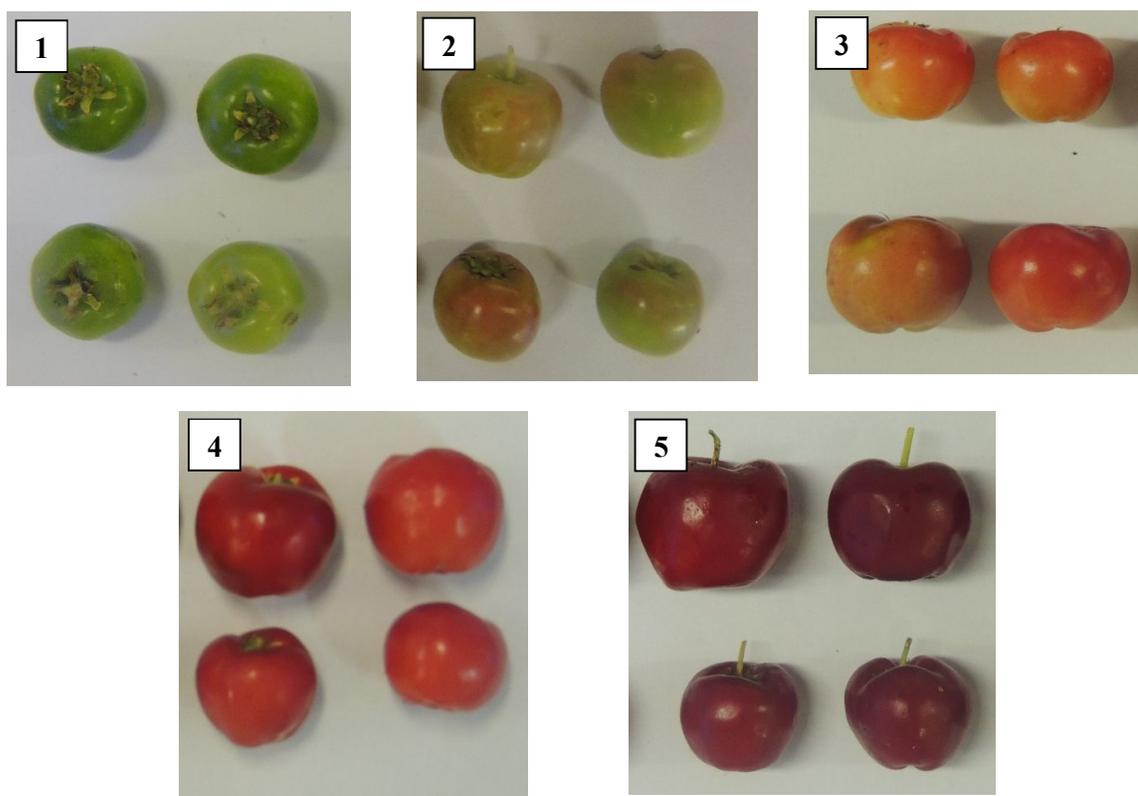
3. MATERIAL E MÉTODOS

3.1 Material

Frutos de aceroleira (*Malpighia emarginata* DC) da cv. BRS 238 (Frutacor) foram colhidos, em outubro de 2018, no campo experimental da EMBRAPA – Agroindústria Tropical, localizado em Pacajus, Ceará. As coordenadas do local são 4°10' S e 38°27' W e altitude de 60 m acima do nível do mar.

A colheita dos frutos foi feita em diferentes estádios de maturação com base na cor da casca e tamanho do fruto: 1) pequeno e verde, 2) grande e verde claro, 3) grande com até 30% de vermelho, 4) grande com até 50% de vermelho e 5) grande com até 100% de vermelho. Após a colheita os frutos foram acondicionados em caixas de polietileno (isopor) e transportados até o Laboratório de Bioquímica e Fisiologia Pós-colheita de Frutos da Universidade Federal do Ceará, onde foram separados, conforme os diferentes estádios de maturação citados acima, processados e armazenados até o momento das análises.

Figura 2* – Estádios de maturação dos frutos com base na coloração da casca e tamanho dos frutos



* Fotos feitas por outro autor na cv. Flor Branca. Fonte: PEREIRA, 2018.

O processamento dos frutos, em cada estágio do desenvolvimento para obtenção da polpa, foi feito utilizando uma centrífuga doméstica e logo após armazenada a -18°C , em um freezer, até o momento da análise. A polpa dos frutos analisados quanto às características físico-químicas e químicas e variáveis do metabolismo de vitamina C e de fenólicos.

3.2 Análises físico-químicas e químicas

3.2.1 Sólidos solúveis (SS)

A polpa dos frutos foi filtrada em papel de filtro em seguida, o conteúdo de sólidos solúveis foi aferido utilizando um refratômetro digital (KASVI modelo K52-032), variando de 0 a 32 °Brix. Os resultados foram expressos em °Brix (concentração de sacarose m.v^{-1}).

3.2.2 Acidez titulável (AT)

A polpa processada foi avaliada por titulação volumétrica conforme a metodologia descrita em IAL (1985). 1,0 g de polpa foi diluída em 50 mL de água destilada e titulada com uma solução de NaOH (0,1 M), sendo fenolftaleína 1% utilizada como indicador. A solução básica foi adicionada lentamente até a mudança de cor para róseo. Os resultados foram expressos em porcentagem de ácido málico.

3.2.3 Relação sólidos solúveis e acidez titulável (SS/AT)

A variável SS/AT foi obtida através da relação entre o conteúdo de sólidos solúveis e acidez titulável apresentada pela polpa dos frutos.

3.2.4 Potencial hidrogeniônico (pH)

O pH foi aferido diretamente na polpa dos frutos utilizando um potenciômetro digital com membrana de vidro, conforme metodologia recomendada pela AOAC (2005).

3.2.5 Clorofila e carotenoides

A quantificação de clorofila e carotenoides foi determinada segundo a metodologia de Lichtenthaler e Wellburn (1983), com adaptações. Foi pesado 1,0 g de polpa fresca e, em seguida, adicionado 1 mL de acetona 80% (v/v) e 0,1 g de carbonato de cálcio. A mistura foi agitada no vortex por 30 s. Em seguida, foi realizada uma centrifugação a $3000 \times g$ durante 15 min a temperatura ambiente. O sobrenadante foi coletado (300 μL) e as absorbâncias foram mensuradas a 663, 646 e 480 nm em leitor de microplacas (Synergyx Mx, Biotek, Estados Unidos) e calculados segundo as fórmulas:

$$\text{- Clorofila a (mg/mL)} = 12,21 \times (A_{663}) - 2,81 \times (A_{646})$$

$$\text{- Clorofila b (mg/mL)} = 20,13 \times (A_{646}) - 5,03 \times (A_{663})$$

- Carotenoides (mg/mL) = (1000 x [A470] - 3,27 x [Clorofila a] - 104 x [Clorofila b]) / 229

Os resultados foram expressos em mg.kg⁻¹.

3.3 Avaliações do metabolismo de vitamina C

3.3.1 Vitamina C total, reduzida (AsA) e oxidada (DHA)

O conteúdo de vitamina C total e de suas formas reduzida (AsA) e oxidada (DHA) foram mensuradas seguindo o método proposto por Chen e Wang (2002), com modificações. Foi pesada 0,1 g de polpa e homogeneizada com 25 mL de ácido tricloroacético (TCA) 5% em banho de gelo. Posteriormente, as amostras foram centrifugadas (Sigma 2-16 KL) a 15.000 x g por 12 min a 4 °C. O sobrenadante foi separado e utilizado como extrato para a determinação de vitamina C total, Asa e DHA.

Para a quantificação de AsA, uma mistura contendo 50 µL do extrato, 12,5 µL do tampão fosfato de potássio 100 mM (pH 7,7), 175 µL de uma mistura contendo ácido tricloroacético (TCA) 10%, ácido fosfórico, 2,2-bipiridil e 0,3% de tricloreto de ferro foram incubado a 37 °C por 60 min e então, absorbância foi monitorada a 525 nm em leitor de microplacas (Synergyx Mx, Biotek, Estados Unidos).

Para a quantificação de vitamina C total, uma mistura contendo 50 µL do extrato, 25 µL de tampão fosfato de potássio 100 mM (pH 7,7) e 12,5 µL de ditioneitol (DTT) 0,01 mM, 175 µL de uma mistura contendo TCA 10%, ácido fosfórico 8,8%, 2,2-bipiridil 0,8% e tricloreto de ferro 0,3% foram adicionadas. A mistura foi mantida a 37 °C por 60 min e em seguida a absorbância foi medida a 525 nm. O DHA foi quantificado a partir da diferença entre a concentração de vitamina C total e de AsA. Uma curva padrão de ácido ascórbico foi utilizada no cálculo das análises e os resultados foram expressos em mg.kg⁻¹ de massa fresca (MF).

3.3.2 Proteínas solúveis totais

O conteúdo de proteínas solúveis totais foi determinado segundo Bradford (1976) utilizando albumina sérica bovina como padrão (BSA). Uma alíquota de 20 µL do extrato enzimático de cada uma das atividades enzimáticas realizadas em todo o trabalho foi adicionada a 200 µL do reagente de Bradford e as leituras feitas em um leitor de microplacas (Synergyx Mx, Biotek, Estados Unidos) a 595 nm. Os resultados foram expressos em mg de proteína.g⁻¹ de polpa e utilizados para o cálculo das atividades enzimáticas específicas tanto do metabolismo da vitamina C, quando do metabolismo de compostos fenólicos.

3.3.3 Atividade da Ascorbato oxidase (AO, EC 1.10.3.3)

O extrato enzimático foi preparado de acordo com Cardello e Cardello (1998). Foram pesados 2,0 g de polpa que foram homogeneizados por 1 min com 8 mL da solução tampão de acetato de sódio 20 mM (pH 5,5), contendo cloreto de sódio 150 mM. Em seguida, a amostra foi centrifugada a 15.000 x g por 30 min a 4 °C e o sobrenadante separado e utilizado como extrato enzimático.

A atividade da AO foi determinada de acordo com a metodologia proposta por Bergmeyer et al. (1983), com algumas modificações. A mistura de reacional foi composta por 194 µL do tampão fosfato de sódio dibásico 10 mM (pH 5,5), contendo 3,5 µL de AsA 0,5 mM e 3,5 µL de extrato enzimático.

A mistura foi incubada a 30 °C, e após 5 min, a reação foi interrompida pela adição de 66 µL de ácido clorídrico 0,2 M. O decréscimo na absorbância a 245 nm foi monitorado a cada 1 min por 5 min em leitor de microplacas (Synergyx Mx, Biotek, Estados Unidos), devido à oxidação do AsA. A atividade foi calculada usando o coeficiente de extinção molar ($\epsilon = 10 \text{ mM}^{-1} \cdot \text{cm}^{-1}$) e os resultados expressos em $\mu\text{mol AsA} \cdot \text{min}^{-1} \cdot \text{mg}^{-1}$ de proteínas (P).

3.3.4 Atividade da Peroxidase do ascorbato (APX, EC 1.11.1.11)

O extrato foi preparado seguindo protocolo modificado de Yang et al. (2009). Foi pesado 1,0 g de polpa e homogeneizado por 1 min com 10 mL de solução tampão fosfato de potássio 0,1 M (pH 7,0), contendo 0,1 mM de EDTA. Em seguida, a amostra foi centrifugada a 15.000 x g durante 20 min a 4 °C e o sobrenadante separado e utilizado como extrato enzimático.

A atividade da APX foi determinada de acordo com a metodologia descrita por Nakano e Asada (1981). A mistura reacional foi composta por 210 µL de tampão fosfato de potássio 0,05 M (pH 6,0), contendo EDTA a 0,05 mM, 20 µL de extrato enzimático, 10 µL de peróxido de hidrogênio (H_2O_2) a 5,96 M e 10 µL de AsA 0,015 M. O decréscimo na absorbância a 290 nm foi monitorado a cada 1 min por 20 min, em leitor de microplacas (Synergyx Mx, Biotek, Estados Unidos), devido à oxidação do AsA. A atividade foi calculada usando o coeficiente de extinção molar ($\epsilon = 2,8 \text{ mM}^{-1} \cdot \text{cm}^{-1}$), sendo os resultados expressos em $\mu\text{mol H}_2\text{O}_2 \cdot \text{min}^{-1} \cdot \text{mg}^{-1}$ P, considerando que 1 mol de AsA é necessário para a redução de 1 mol de H_2O_2 .

3.4 Avaliações do metabolismo de compostos fenólicos

3.4.1 Determinação de polifenóis extraíveis totais (PET)

O extrato utilizado para determinar o conteúdo de polifenóis extraíveis totais foi obtido conforme metodologia de Larrauri, Ruperez e Saura-Calixto (1997). Foi pesado 1,0 g de polpa e este foi suspenso em 4,0 mL de metanol 50%, homogeneizada e deixada em repouso por 1 h, à temperatura ambiente. Posteriormente, o material foi centrifugado a 16.000 x g, por 15 min, a 20 °C e o sobrenadante recolhido. O precipitado foi ressuspenso em 4,0 mL de acetona 70%, homogeneizado, deixado em repouso por 1 h em ambiente, no escuro e então centrifugado a 16.000 x g por 15 min, a 20 °C. O sobrenadante foi recolhido, colocado em balão volumétrico junto ao primeiro extrato e o volume aferido para 10 mL com água destilada.

O conteúdo de polifenóis totais foi determinado pelo método de Folin-Ciocalteu (OBANDA; OWUOR, 1997) adaptado por Rufino et al. (2006). Em microtubos protegidos da luz, foram adicionados nesta ordem: 100 µL do extrato, 650 µL de água destilada, 250 µL do reativo de Folin-Ciocalteu e 500 µL de carbonato de sódio anidro 20% (m/v). Após homogeneização, os tubos descansaram por 30 min protegidos da luz e a temperatura ambiente. A leitura da absorbância foi feita em espectrofotômetro a 700 nm. O conteúdo de polifenóis extraíveis totais foi calculado com base em uma curva padrão de doses crescentes de ácido gálico 98% (0 – 50 µg), utilizado como referência e os resultados expressos em mg de equivalentes de ácido gálico (EAG).kg⁻¹ de massa fresca (MF).

3.4.2 Flavonoides amarelos e antocianinas totais

O conteúdo de flavonoides amarelos e antocianinas totais foi determinado seguindo a metodologia descrita por Francis (1982). Foi pesado 1,0 g de polpa e este foi suspenso em 20 mL de etanol-HCl 1,5 N, na proporção 85:15. As amostras foram processadas utilizando um homogeneizador de tecidos por 2 min e transferida para um balão volumétrico âmbar de 25 mL, aferindo-se o volume com a solução extratora. O conteúdo do balão foi acondicionado em frasco âmbar e deixado descansar por 12 h a 4 °C, em geladeira, protegido da luz. Posteriormente, o material foi filtrado utilizando papel de filtro (Hack) e o filtrado (300 µL) teve sua absorbância monitorada a 374 nm e a 532 nm, em leitor de microplacas (Synergyx Mx, Biotek, Estados Unidos), para os flavonoides amarelos e antocianinas totais, respectivamente. O conteúdo de flavonoides amarelos e de antocianinas totais foram calculados utilizando coeficiente de extinção molar 76,6 e 98,2 mol⁻¹. cm⁻¹, respectivamente. Os resultados foram expressos em mg.kg⁻¹ MF.

3.4.3 Atividade da Fenilalanina amônia liase (do inglês, PAL, EC 4.3.1.24)

O extrato enzimático utilizado para a determinação da atividade da fenilalanina amônia liase foi preparado de acordo com o método proposto por Mori, Sakurai e Sakuta (2001) e El-Shora (2002). Foi pesado 1,0 g de polpa e em banho de gelo, este foi homogeneizado durante 3 min com 4 mL de tampão Tris-HCl 10 mM (pH 8,4) contendo EDTA e polivinilpirrolidona (PVP). Seguiu-se uma centrifugação a 10.000 x g durante 10 min a 4 °C, sendo o sobrenadante separado e utilizado como extrato enzimático. A mistura reacional foi composta de 5 µL de βmercaptoetanol, 25 µL de extrato, 145 µL de tampão Tris-HCl 100 mM (pH 8,4) e 50 µL de L-fenilalanina a 40 mM.

Após 1 h de incubação a 30 °C, a reação foi paralisada pela adição de 25 µL de HCl a 6 M. A absorbância foi determinada a 290 nm em leitor de microplacas (Synergyx Mx, Biotek, Estados Unidos) e uma curva padrão foi construída com base na quantidade de ácido transcinâmico formado e os resultados foram expressos em µmol ác. transcin.h⁻¹.mg⁻¹ P.

3.4.4 Atividade da Polifenoloxidase (PPO, EC 1.14.18.1)

O extrato enzimático para a determinação da PPO foi preparado segundo o método descrito por Sojo et al. (1998) com modificações. Foi pesado 1,0 g de polpa e em banho de gelo, este foi homogeneizado durante 5 min com 10 mL do tampão fosfato de potássio 0,1 M (pH 6,0), contendo 4% de Triton X-100 e 0,02 g de PVPP. Após centrifugação a 5000 x g durante 40 min a 4 °C, o precipitado foi descartado e o sobrenadante incubado em banho-maria durante 10 min a 37 °C, seguido por centrifugação a 2000 x g durante 20 min a 4 °C. O sobrenadante foi utilizado como extrato para análise da atividade da PPO.

A atividade foi determinada segundo Robinson (1987). A mistura reacional consistiu de 80 µL de tampão fosfato de potássio a 0,1 M (pH 6,0), 100 µL do extrato e 5 µL de substrato pirocatecol 0,1 M. Após incubação a 30 °C durante 30 min, a absorbância foi medida a 395 nm, em leitor de microplacas (Synergyx Mx, Biotek, Estados Unidos), de modo que uma unidade de atividade enzimática (UA) foi definida como uma variação de 0,001 na absorbância da mistura a 395 nm e os resultados foram expressos como UA min⁻¹.mg⁻¹ P.

3.5 Delineamento experimental e Análise estatística

O delineamento experimental adotado foi o inteiramente casualizado (DIC) em 5x3 que corresponde a cinco tratamentos: (estádios de maturação) e três repetições. Os dados foram submetidos à análise de variância (ANOVA) e a comparação das médias realizada

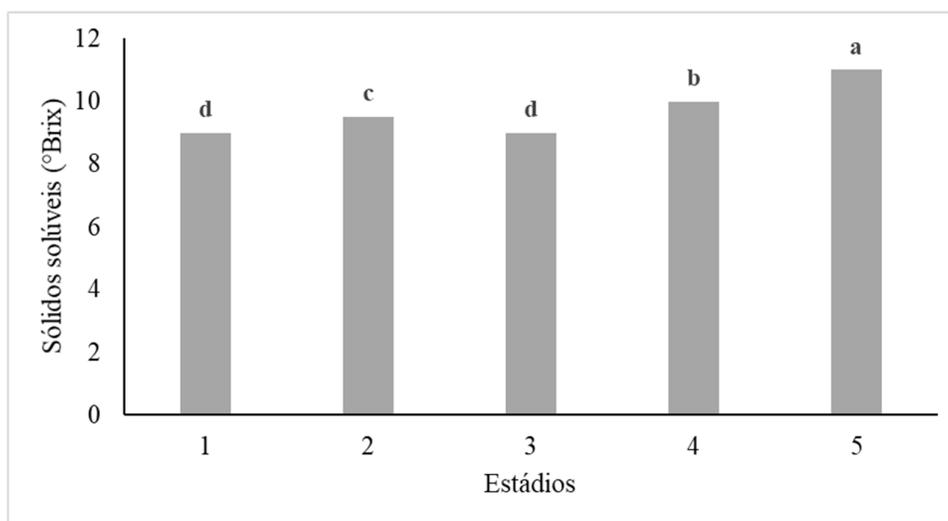
através do teste de Tukey ao nível de 5% de probabilidade com uso do software estatístico SISVAR, na versão 5.6.

4. RESULTADOS E DISCUSSÃO

4.1 Análises físico-químicas e químicas durante o desenvolvimento de acerola BRS 238

Mudanças importantes no que diz respeito a qualidade de frutos ocorreram na cv. BRS 238 (Frutacor) durante o seu desenvolvimento, como no conteúdo de sólidos solúveis (SS) que aumentou com o processo de amadurecimento (Figura 2).

Figura 3 – Conteúdo de sólidos solúveis (SS) durante o desenvolvimento da acerola BRS 238 (Frutacor)



Médias seguidas pela mesma letra não diferem estatisticamente pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade. Fonte: Autor, 2020.

No estágio 2 (grande e verde claro), o conteúdo de SS se encontrava em 9,5 °Brix e este aumentou de forma significativa para 10 °Brix no estágio 4 (grande com até 50% de vermelho) atingindo 11 °Brix no estágio 5 (grande com até 100% de vermelho). Os valores de SS encontrados estão de acordo com as exigências de qualidade da polpa de frutas determinado pelo MAPA (Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento), que requer 5,5 °Brix no mínimo (BRASIL, 2000).

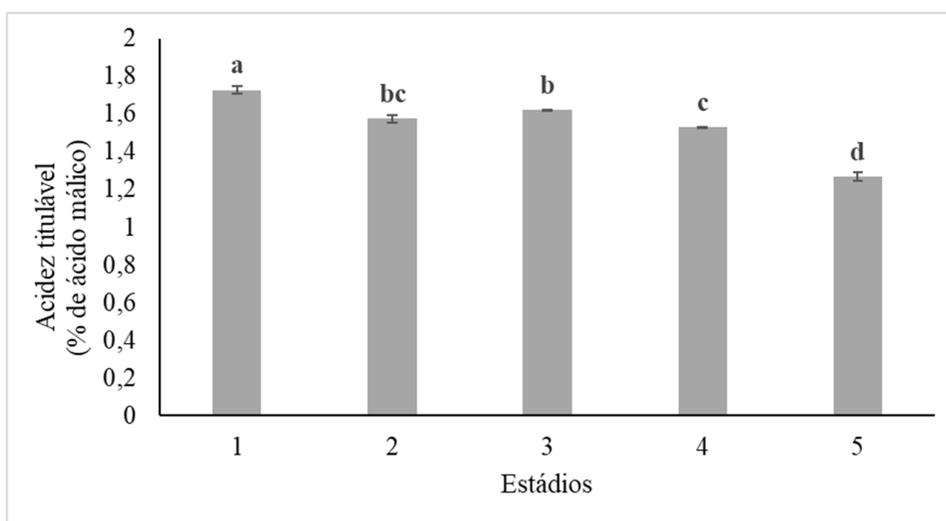
Ribeiro e Freitas (2020) encontraram valores que de 7,6 a 8,6 °Brix na cv. Junko em três estádios de maturação. Figueiredo Neto et al. (2014) estudando as cultivares Flor-Branca, Okinawa e Sertaneja em três estádios de maturação encontraram conteúdos de SS elevados de 12,70 °Brix na cv. Okinawa quando esta estava madura. Ferreira et al. (2009), estudando o ponto de colheita de acerolas para produção industrial de polpas em diferentes estádios de maturação de acordo com a coloração da polpa, observaram valores de SS variando de 9,2 a 13,5 °Brix. Também houve um declínio no valor de SS no estágio 1 (verde intenso), de 9,2

para 8,8 °Brix no estágio 2 (classificado como verde claro) voltando a aumentar no estágio 3 (25% de vermelho) para 9,4, aumentando gradualmente nos outros estádios.

Nasser e Zonta (2014), encontraram resultados variando entre 6,8 a 7,3 °Brix na cv. BRS 238 (Frutacor), também observaram um decréscimo quando o estágio passa de verde para a maturidade fisiológica ou “de vez”, voltando a aumentar quando maduro. Oliveira et al. (2012), estudaram frutos de clones de aceroleira em 4 estádios de maturação e observaram valores de SS para a BRS 238 (Frutacor) que variavam entre 7,15 a 7,78 °Brix e que aumentavam durante o amadurecimento podendo estar correlacionado com o conteúdo de polifenóis e antocianinas (OLIVEIRA, et al., 2011). Porém, o aumento no conteúdo de SS pode ser explicado, principalmente pelo acúmulo de açúcares através da gliconeogênese ou a hidrólise de polissacarídeos como o amido (OLIVEIRA, 2012).

Para se ter uma melhor compreensão das mudanças no sabor durante o amadurecimento a acidez titulável (AT) também foi avaliada (Figura 3). No estágio 1, a AT era 1,73% e caiu significativamente para 1,27% de ácido málico no estágio 5.

Figura 4 – Acidez titulável durante o desenvolvimento da acerola BRS 238 (Frutacor)



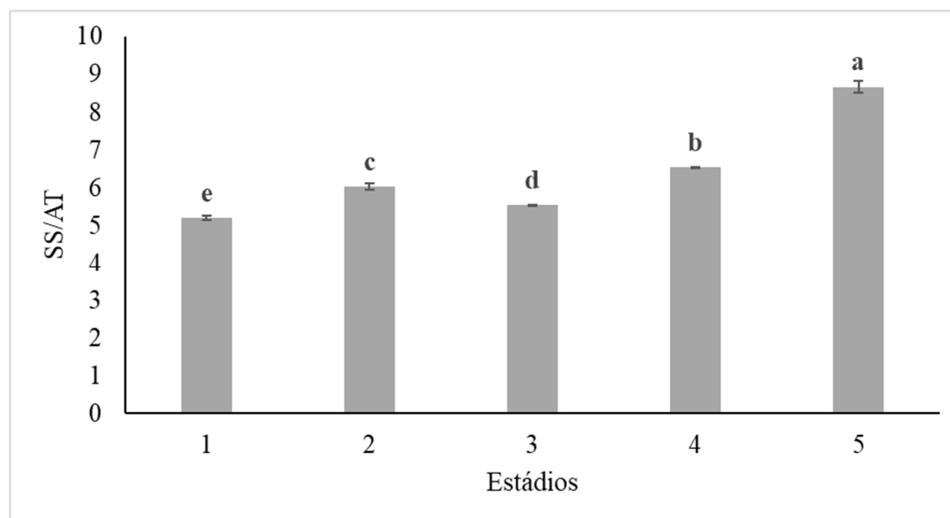
Médias seguidas pela mesma letra não diferem estatisticamente pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade. Fonte: Autor, 2020.

Nasser e Zonta (2014) encontraram um aumento no conteúdo de AT para a variedade Okinawa de 1,15 para 1,45% de ácido málico quando esta passou de verde para maduro. Contudo, é mais comum haver um declínio da acidez durante o amadurecimento. Souza et al. (2014) estudaram frutos de clones de aceroleiras das cultivares Flora Sweet, Flor Branca e BRS 366 e observaram um declínio na acidez com o amadurecimento. Os valores

encontrados para AT podem variar não só entre cultivares e estádios de maturação, mas também em relação as diferentes épocas de colheita. A queda observada na acidez, pode ter sido resultada dos ácidos orgânicos utilizados no ciclo de Krebs durante o processo respiratório e como fonte de carbono para a gliconeogênese ou síntese de novo de açúcares (MACIEL et al., 2010). Nasser et al. (2018) encontraram variações dentro das mesmas cultivares quando estas foram avaliadas em duas épocas diferentes, no mesmo estudo, para frutos maduros da BRS 238 (Frutacor), na primeira época de colheita (fevereiro a março de 2014) foi 1,03% de ácido málico e na segunda época (dezembro de 2014 a janeiro de 2015) foi 1,35% em frutos maduros. Os autores discutem que as diferenças entre os resultados encontrados são justificadas pela diferença nas condições climáticas entre as épocas de colheita, as quais estão associadas a exposição à radiação solar das plantas e frutos.

Como o sabor é resultado do acúmulo de SS e o declínio da AT, a relação entre SS/AT foi avaliada e um aumento foi observado (Figura 4). A relação SS/AT aumentou significativamente de 5,21 no estágio 1, até 8,67 no estágio 5 indicando que apesar do aumento observado nessa relação, os frutos apresentam-se ainda com sabor ácido quando maduros.

Figura 5 – Relação sólidos solúveis/acidez titulável durante o desenvolvimento da acerola BRS 238 (Frutacor)



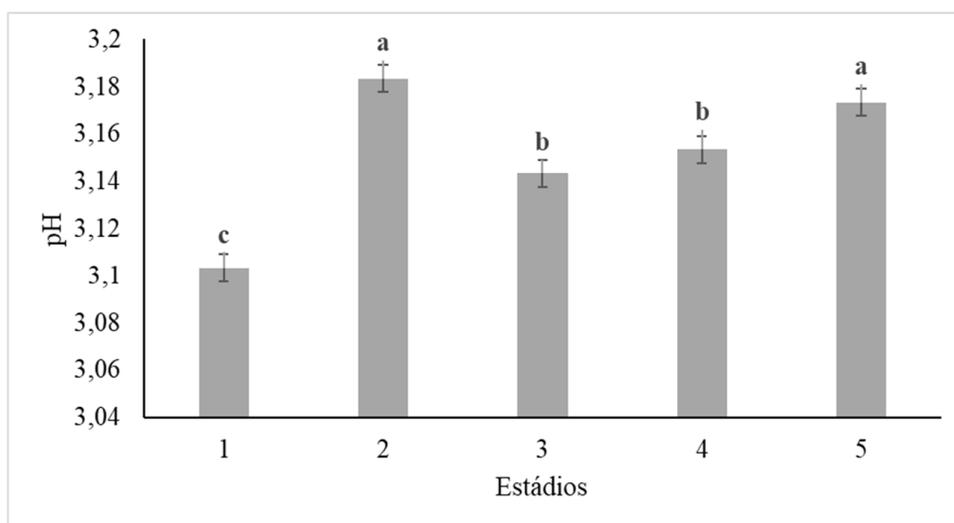
Médias seguidas pela mesma letra não diferem estatisticamente pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade. Fonte: Autor, 2020.

Viana et al. (2017) estudaram frutos maduros de quatro cultivares produzidas organicamente e observaram valores de 11,66 para a cv. Rubra, enquanto a cv. Junco teve uma relação de 4,94. Nasser e Zonta (2014) encontraram para a relação SS/AT maior valor

na variedade Mirandópolis e as médias variaram de 3,18 a 10,49 entre as variedades estudadas pelos mesmos.

O valor de pH aumentou ligeiramente durante a maturação dos frutos de 3,10 no estágio 1, para 3,17 no estágio 5 (Figura 5). Segundo Santos et al. (2012), o pH é estável, pois os frutos mantêm essas condições no citoplasma de suas células para proporcionar boas condições para o seu metabolismo. Vale ressaltar que os valores para pH, assim como para outros atributos físico-químicos e químicos também são influenciados pelas variedades, manejo, condições climáticas, entre outros. Nasser e Zonta (2014) encontraram valores constantes de 3,6 em todos os estágios avaliados da BRS 238 (Frutacor). Meneses et al. (2018) encontraram valores variando entre 3,63 até 4,63 ao avaliar frutos em maturidade fisiológica de 9 genótipos diferentes.

Figura 6 – pH durante o desenvolvimento da acerola BRS 238 (Frutacor)

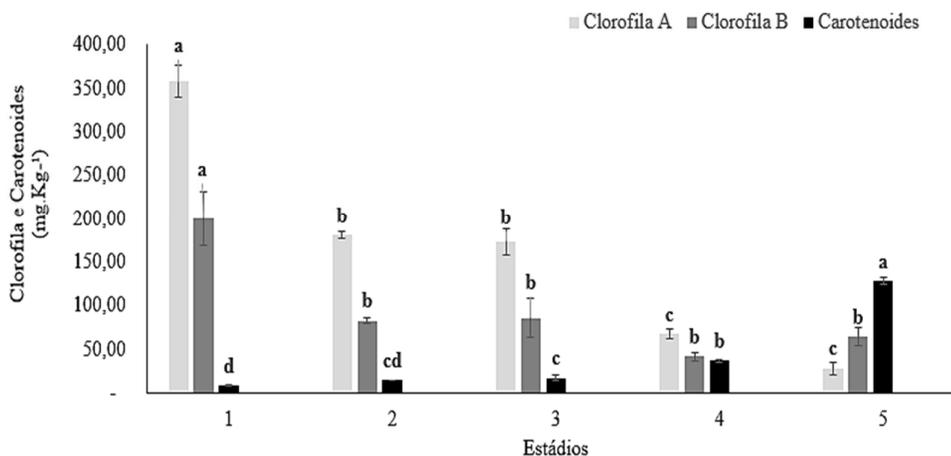


Médias seguidas pela mesma letra não diferem estatisticamente pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade. Fonte: Autor, 2020.

4.2 Pigmentos durante o desenvolvimento de acerola BRS 238

Os resultados encontrados nesse trabalho para o conteúdo de clorofila a e b e carotenoides mostram que há a degradação gradativa de clorofila e um aumento no conteúdo de carotenoides durante o desenvolvimento (Figura 6). O conteúdo de clorofila a no estágio 1 era 357,88 e reduziu significativamente para 27,77 mg.kg⁻¹ no estágio 5. O conteúdo de clorofila b foi menor mas também declinou significativamente do estágio 1 para o 2, de 200,30 para 82,32 mg.kg⁻¹ e depois se manteve constante.

Figura 7 – Conteúdo de clorofila a e b e de carotenoides durante o desenvolvimento da acerola BRS 238 (Frutacor)



Médias seguidas pela mesma letra não diferem estatisticamente pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade. Fonte: Autor, 2020.

Os carotenoides aumentaram significativamente de 8,23 no estágio 1 para 127,85 mg.kg⁻¹ no estágio 5, sendo o principal aumento observado após o estágio 4. Os resultados desse trabalho indicam que a síntese dos carotenoides, na acerola BRS 238, é concomitante à degradação de clorofila explicando a mudança da cor de frutos de verde para vermelho.

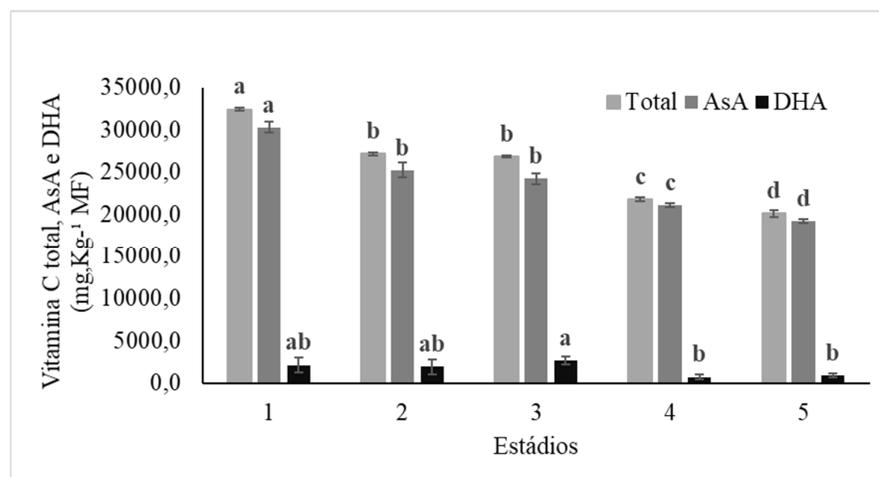
Lima et al. (2005), avaliando o conteúdo de carotenoides em acerolas em diferentes estádios de maturação, verificaram que o conteúdo de carotenoides variava entre 3,2 a 406 mg.kg⁻¹ a depender do genótipo, estágio de maturação e época de colheita. Os carotenoides apresentam importância nutricional por serem precursores da vitamina A, além de efeitos benéficos contra cânceres, doenças do coração e degeneração muscular já foram atribuídos a estes compostos. Além disso, também atuam como antioxidantes, o que o caracteriza como um composto bioativo (DELGADO-VARGAS; JIMÉNEZ; PAREDES-LÓPEZ, 2000; UENOJO, 2007).

4.3 Metabolismo de vitamina C durante o desenvolvimento de acerola BRS 238

A vitamina C total reduziu significativamente seu conteúdo de 32.425,29 mg.kg⁻¹, no estágio 1 para 20.106,10 mg.kg⁻¹ no estágio 5 (Figura 7). Consequentemente as formas reduzidas (AsA) e oxidada (DHA) também. As formas reduzida e oxidada decaíram de 30.294,40 e 2.130,89 para 19.215,33 e 890,77 mg.kg⁻¹, respectivamente. A vitamina C é um composto bioativo que apresenta benefícios a saúde tanto em sua forma reduzida (AsA)

quanto oxidada (DHA) e os seus conteúdos variam de acordo com espécie, cv., condições de cultivo e colheita, além do amadurecimento (GOMEZ; LAJOLO, 2008; RABELO, 2016). Para acerolas, o declínio na vitamina C com o desenvolvimento já foi relatado por Oliveira et al. (2012) que encontraram para BRS 238, 27.133,7 mg.kg⁻¹ no estágio verde imaturo decaindo para 21.066,3 mg.kg⁻¹ no estágio verde predominante, 17.696,9 mg.kg⁻¹ no estágio vermelho predominante, chegando a 12.008,0 mg.kg⁻¹ no estágio vermelho maduro.

Figura 8 – Conteúdo vitamina C total, ácido ascórbico (AsA) e ácido dehidroascórbico (DHA) durante o desenvolvimento da acerola BRS 238 (Frutacor)



Médias seguidas pela mesma letra não diferem estatisticamente pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade. Fonte: Autor, 2020.

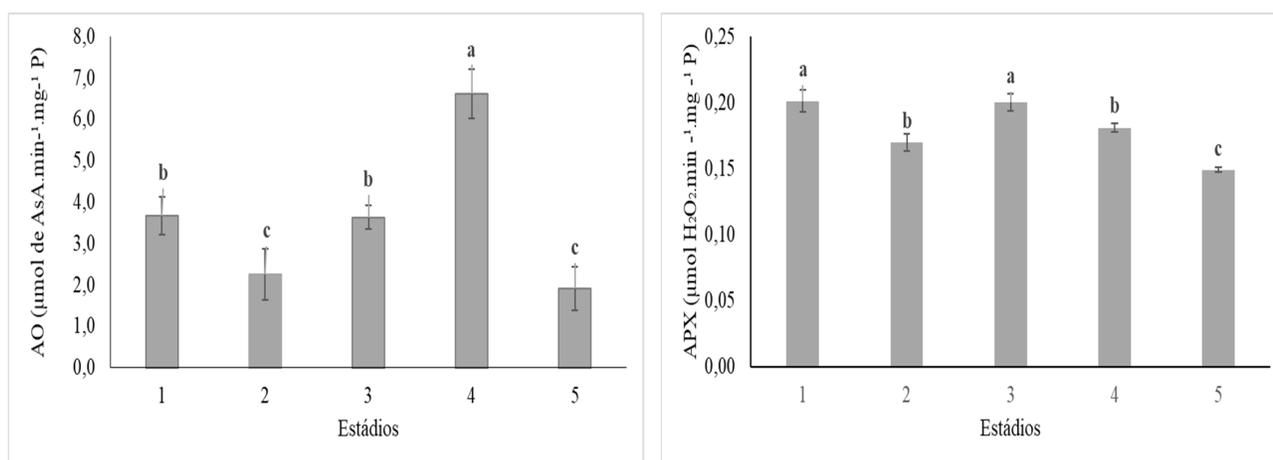
Neto et al. (2014) avaliaram frutos das cultivares Flor-Branca, Okinawa e Sertaneja, em três estádios de maturação e encontraram conteúdos de vitamina C entre 25.271,4 até 35.636,4 em acerolas verdes e de 17.864,3 até 31.410,2 mg.kg⁻¹ em acerolas maduras. Nasser et al. (2018) avaliaram frutos maduros de 7 cultivares de acerolas em diferentes épocas de colheita, encontraram resultados variando de 10.660,0 até 19.385,0 mg.kg⁻¹. Para a cv. BRS 238 (Frutacor), foi observado conteúdos de 14.170,0 mg.kg⁻¹ na primeira época e 13.750,0 na segunda época de colheita. Os autores relatam que os fatores climáticos provavelmente foram os responsáveis por essa variação. Nasser e Zonta (2014) também encontraram para a mesma cv., em três estádios de desenvolvimento, conteúdos de 20.400,0 a 11.350,0 mg.kg⁻¹ quando esta foi de verde para madura, e 15.600,0 no estágio “de vez”.

O conteúdo e as formas de vitamina C podem ser influenciados pela síntese como pela oxidação enzimática ou por auto oxidação. A oxidação enzimática pode ser mediada por enzimas oxidoreduases como a ascorbato oxidase que catalisa a oxidação de AsA a

monodehidroascorbato (MDHA) reduzindo o oxigênio molecular (O_2) à água; e a peroxidase do ascorbato que utiliza duas moléculas de AsA para reduzir peróxido de oxigênio (H_2O_2) à água formando MDHA (FOYER; NOCTOR, 2011).

A Figura 9 mostra que a atividade enzimática da AO apresentou um pico no estágio 4 atingindo $6,62 \mu\text{mol AsA}\cdot\text{min}^{-1}\cdot\text{mg}^{-1} \text{ P}$, enquanto a atividade da APX declinou significativamente de $0,20$ para $0,15 \mu\text{mol H}_2\text{O}_2\cdot\text{min}^{-1}\cdot\text{mg}^{-1} \text{ P}$ do estágio 1 para o 5, havendo um aumento significativo no estágio 3 de $0,17$ para $0,20 \text{ H}_2\text{O}_2\cdot\text{min}^{-1}\cdot\text{mg}^{-1} \text{ P}$.

Figura 9 – Atividade das enzimas ascorbato oxidase (AO) e peroxidase do ascorbato (APX) durante o desenvolvimento da acerola BRS 238 (Frutacor)



Médias seguidas pela mesma letra não diferem estatisticamente pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade.

Fonte: Autor, 2020.

O aumento na atividade da AO, no estágio 4, observa-se que neste momento há uma diferença significativa no conteúdo de vitamina C total, AsA e DHA em comparação aos estádios 2 e 3 (Figura 8), enquanto a APX exerceu maior influência no estágio 3 (Figura 8). No sistema antioxidante a dismutase do superóxido (SOD) é a primeira na linha de defesa, atuando na conversão de radical superóxido ($O_2\cdot$) a H_2O_2 (LOPES, 2015). A APX é a mais importante enzima removedora de H_2O_2 produzida nos cloroplastos, possui uma alta afinidade por esta espécie química que em baixas concentrações é capaz de promover sua desintoxicação através da doação de elétrons vinda do ascorbato, reduzindo o H_2O_2 a água, formando MDHA (ZIMMERMANN; ZENTGRAF, 2005).

Souza et al. (2014) avaliaram frutos em quatro estádios de desenvolvimento e encontraram maior atividade da APX na cv. Flor Branca de $26,04$ e $2,94 \mu\text{mol H}_2\text{O}_2\cdot\text{min}^{-1}\cdot\text{mg}^{-1} \text{ P}$ nos estádios com cor da casca totalmente verde e com coloração predominantemente

vermelho, respectivamente. Oliveira (2012), ao avaliar a BRS 238 em quatro estádios do desenvolvimento encontrou um decaimento da atividade dessa enzima durante o desenvolvimento, porém com valores maiores ao desse trabalho, a atividade dessa enzima decaiu de 198,95 para 94,59 $\mu\text{mol H}_2\text{O}_2\cdot\text{min}^{-1}\cdot\text{mg}^{-1}$ P, do estádio verde pequeno e imaturo para o maduro e vermelho.

4.4 Metabolismo de compostos fenólicos durante o desenvolvimento de acerola BRS 238

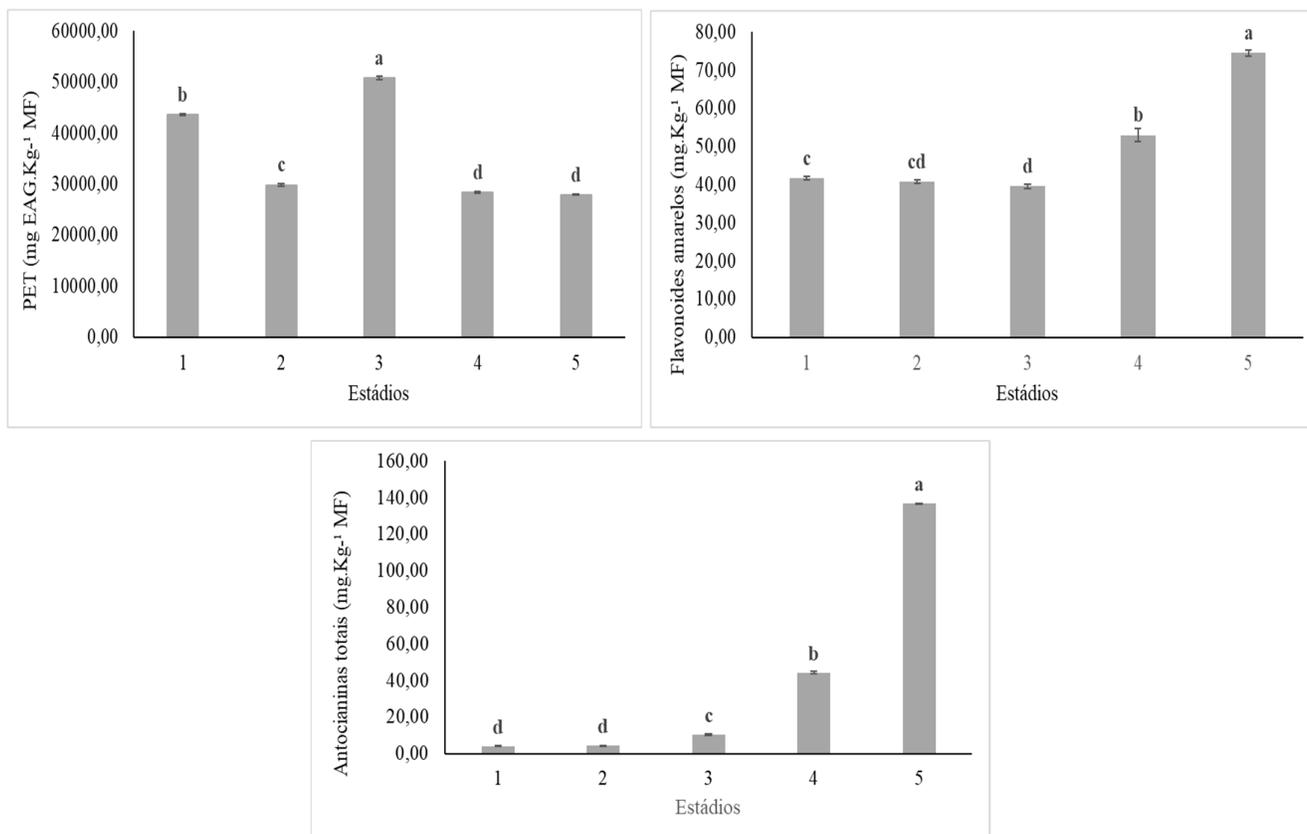
Os resultados para polifenóis extraíveis totais (PET) mostram uma queda significativa no conteúdo com o desenvolvimento dos frutos (Figura 10). No estádio 1, o conteúdo era de 43.661,85 e aumentou no estádio 3 para 50.829,40 mg EAG.kg⁻¹ MF, caindo até o estádio 5 para 27.900,96 mg EAG.kg⁻¹ MF.

Apesar da queda no conteúdo de fenólicos, o conteúdo de flavonoides amarelos aumentou a partir do estádio 4 de forma significativa de 53,00 para 74,48 mg.kg⁻¹ no estádio 5, assim como o conteúdo de antocianinas, aumentou de 44,28 no estádio 4 para 136,08 mg.kg⁻¹, no estádio 5 (Figura 9). Esses resultados coincidem com os estádios quando os frutos passaram de 75 para 100% da coloração da casca vermelha sugerindo que nessa fase do desenvolvimento há uma maior síntese desses compostos.

Os compostos fenólicos, assim como a vitamina C, são compostos bioativos produzidos no metabolismo secundário das plantas, com aproximadamente 10.000 compostos que possuem diversas estruturas e desempenham inúmeras funções (LIN et al., 2016), como defesa contra herbívoros e patógenos, atração de polinizadores, alelopatia, atividade antibacterianas e antifúngicas, dentre outras são atribuídas a estes compostos (EDREVA et al., 2008; TAIZ; ZEIGER, 2017). Além disso, a ação antioxidante contra o estresse oxidativo nas células vegetais é atribuída como uma das funções mais importantes desses compostos (KULBAT, 2016).

Os polifenóis atuam como compostos antioxidantes pela supressão do oxigênio singlete ou de radicais livres prevenindo lesões celulares (RICE-EVANS, 1995; LUO et al., 2011). De forma geral, a atividade antioxidante se deve a capacidade que estes têm em doar hidrogênios dos grupos hidroxila posicionada ao longo do anel benzênico, a fim de impedir a oxidação de lipídeos e outras biomoléculas (FOTI et al., 1994; ALAMED et al., 2009). Oliveira (2012) relata valores de polifenóis em acerolas que variam de 21.310 a 43.719 mg EAG.kg⁻¹ MF em frutos verdes e 9.310 a 16.790 mg EAG.kg⁻¹ MF em frutos maduros.

Figura 10 – Conteúdo de polifenóis extraíveis totais (PET), flavonoides amarelos e antocianinas totais durante o desenvolvimento da acerola BRS 238 (Frutacor)



Médias seguidas pela mesma letra não diferem estatisticamente pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade. Fonte: Autor, 2020.

Souza et al. (2014) encontraram resultados semelhantes ao desse trabalho quanto aos PET com frutos da cv. Flor Branca, foram observados valores de 43.388,9 mg EAG.kg⁻¹ MF em frutos imaturos verdes, que decaíram para 25.398,3 mg EAG.Kg⁻¹ MF em frutos fisiologicamente maduros, 20.107,9 mg EAG.kg⁻¹ MF em frutos com coloração predominantemente vermelha e 15.606,7 mg EAG.kg⁻¹ MF em frutos totalmente vermelhos.

Os flavonoides são um grande grupo de compostos fenólicos, dentre os quais, os flavonoides amarelos e as antocianinas são os principais responsáveis pela pigmentação de frutos em aceroleiras (VENDRAMINI; TRUGO, 2004; HUBER; RODRIGUEZ-AMAYA, 2008; RODRIGUEZ-AMAYA; KIMURA; AMAYA-FARFAN, 2008). Além de funções fisiológicas nas plantas, oferecem benefícios a saúde como funções antialérgica, antiviral, antitumoral, anti-inflamatória e antioxidante (MACHADO, 2008). A alta atividade antioxidante desses compostos se dá principalmente por antocianinas do tipo cianidina e

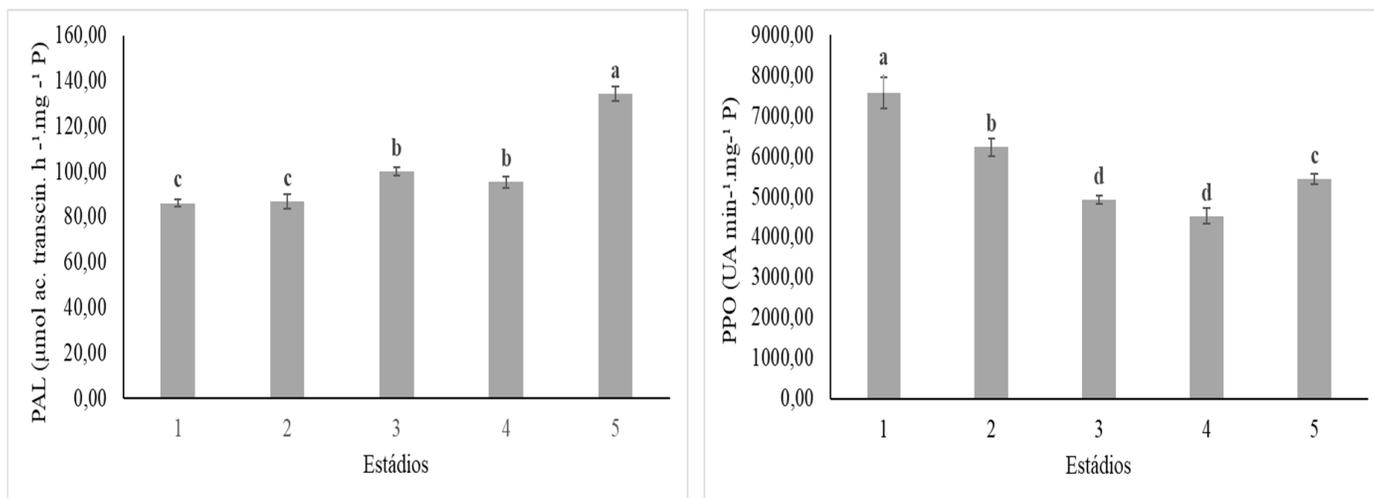
flavonoides amarelos do tipo quercetina (HANAMURA; HAGIWARA; KAWAGISHI, 2005; SOUZA et al., 2014). Estes compostos se acumulam durante o desenvolvimento dos frutos (SOUZA et al., 2014).

Batista et al. (2018) avaliaram frutos na maturidade fisiológica de quatro cultivares e observaram conteúdos que variaram de 68,00 a 107,30 mg.kg⁻¹ para flavonoides amarelos. Oliveira et al. (2020) encontrou 29,20 mg.kg⁻¹ em acerolas maduras provenientes de um mercado local no Ceará.

Apesar da presença de outros pigmentos como os carotenoides e flavonoides amarelos, as antocianinas são as principais responsáveis pela cor vermelha da acerola, sintetizados durante o amadurecimento desta (SOUZA, 2014). O conteúdo desta tende a aumentar com o amadurecimento, apresentando aumentos significativos na fase final do amadurecimento, o que a torna principal polifenol presente nos frutos (HANAMURA; UCHIDA; AOKI, 2008; OLIVEIRA, 2012). Batista et al. (2018) avaliaram frutos na maturidade fisiológica e observaram um conteúdo de 70,30 mg.kg⁻¹ na cv. Flor Branca até 130,00 na cv. Okinawa. O conteúdo varia também durante o desenvolvimento, como visto por Souza et al. (2014), estes visualizaram um aumento de 25,50 para 123,70 mg.kg⁻¹ durante o desenvolvimento da cv. Flor Branca.

O conteúdo de compostos fenólicos depende do equilíbrio entre sua síntese e sua degradação. A fenilalanina amônia liase (PAL) é a principal enzima de sua biossíntese enquanto sua degradação pode ser catalisada de forma enzimática ou por autoxidação. A Figura 10 mostra os resultados para atividade da PAL que aumentou significativamente do estágio 1, com 86,07 para 134,34 $\mu\text{mol } \acute{\text{a}}\text{c. transcin. h}^{-1}.\text{mg}^{-1} \text{ P}$ no estágio 5 isso justifica o auto conteúdo de PET verificado, e logo após o conteúdo de flavonoides amarelos e antocianinas.

Figura 11 – Atividade da fenilalanina amônia liase (PAL) e polifenoloxidase (PPO) durante o desenvolvimento da acerola BRS 238 (Frutacor)



Médias seguidas pela mesma letra não diferem estatisticamente pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade. Fonte: Autor, 2020.

No estágio 3, a atividade da PAL aumenta significativamente, em comparação ao estágio 2, concomitantemente o conteúdo de PET também aumenta nesse estágio (Figura 10), que pode ter sido causado pela maior atividade dessa enzima. A alta atividade no estágio 5 pode ter causado a síntese de flavonoides amarelos e antocianinas que aumentam nesse mesmo estágio como visto na Figura 10.

A degradação dos compostos fenólicos pode ocorrer pela ação de enzimas oxirredutases, como a PPO (YAN et al., 2013), cuja a atividade, neste estudo, decaiu de 7.559,52 UA min⁻¹.mg⁻¹ P, no estágio 1 para 5.438,65 UA min⁻¹.mg⁻¹ P, no estágio 5. A PPO localiza-se nos plastídios, enquanto seus substratos, os compostos fenólicos ficam nos vacúolos e a partir do momento em que há algum tipo de dano no tecido vegetal, ocorre uma descompartimentalização e essa enzima entra em contato com seu substrato (MURATA; NODA; HOMMA, 1995; PARKIN, 2010; LIU et al., 2011). Quando há o encontro da enzima com seu substrato ocorre, de modo geral, reações de oxidação que formam quinonas, que conduzem a reações não enzimáticas que se polimerizam e dão origem a pigmentos de cor de cor escura (melaninas) (ZERAIK et al., 2008). A ação dessa enzima provoca perda da qualidade e altera o sabor, além de causar enormes perdas econômicas (ARAUJO, 2004).

5. CONCLUSOES

Pode-se concluir que a acerola BRS 238 (Frutacor) possui uma alta relação SS/AT que confere um sabor doce a essa fruta, se comparada a outros clones, mas seu amadurecimento foi acompanhado por uma diminuição no de vitamina C de 32.425,29 mg.kg⁻¹, no estágio 1 para 20.106,10 mg.kg⁻¹ no estágio 5 e polifenóis, que decaiu de 43.661,85 no estágio 1 para 27.900,96 mg EAG.kg⁻¹ MF no estágio 5, devido a atividade de enzimas do seu respectivo metabolismo. Apesar desses compostos diminuïrem seu conteúdo nos estádios finais do desenvolvimento, esta tem um conteúdo alto de antocianinas e flavonoides amarelos nos estádios finais do desenvolvimento que confere a este fruto bons conteúdos de bioativos durante todo o seu desenvolvimento.

O melhor aproveitamento desses bioativos vai depender do interesse que se tem com esse fruto. Para a indústria de vitamina C, o melhor aproveitamento se dará no estágio 1 onde esse composto se encontra em maior quantidade. Se o interesse for a comercialização ou o consumo do fruto in natura, o estágio 4 e 5 são os mais recomendados, visto que nestas fases o fruto está mais doce, ainda possui uma quantidade considerável de vitamina C, além de outros bioativos aumentarem nesta fase como os carotenoides, as antocianinas, e os flavonoides amarelos.

6. REFÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ADECE. Agência de Desenvolvimento do Estado do Ceará S/A. 2013.

AGRIANUAL 2019: Anuário da agricultura brasileira. São Paulo: Instituto FNP, p. 448, 2019.

AGRIANUAL: anuário da agricultura brasileira. São Paulo: FNP Consultoria Comércio, 2010. 520 p.

AHMAD, N.; ZUO, Y.; LU, X.; ANWAR, F.; HAMEED, S. Characterization of free and conjugated phenolic compounds in fruits of selected wild plants. **Food Chemistry**, v. 190, p. 80–89, 2016.

ALAMED, J.; CHAIYASIT, W.; McCLEMENTS, D. J.; DECKER, E. A. Relationships between free radical scavenging and antioxidant activity in foods. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, Califórnia, v. 57, n. 7, p. 2969-2976, 2009.

ALMEIDA, J. I. L.; LOPES, J. G. V.; OLIVEIRA, F. M. M. **Produtor de acerola**. Fortaleza: Edições Demócrito Rocha, Instituto Centro de Ensino Tecnológico, 2002. 40p.

ALMEIDA, S. S.; ALVES, W. A. L.; ARAÚJO, S. A.; SANTANA, J. C. C.; NARAIN, N.; SOUZA, R. R. Use of simulated annealing in standardization and optimization of the acerola wine production. **Food Science and Technology**, v. 34, p. 292-297, 2014.

ANGELO, P. M.; JORGE, N. Compostos fenólicos em alimentos – Uma breve revisão. **Instituto Adolfo Lutz**. v. 66, n. 1, p. 1-9, 2007.

ANTONIALI, S.; LEAL, P. A. M.; MAGALHÃES, A. M.; FUSIKI, R. T.; SANCHES J. Respiração de pimentão amarelo sob influência do estágio de maturação e da temperatura de armazenamento. **Horticultura Brasileira**, v. 24, p. 71-74, 2006.

ANUÁRIO BRASILEIRO DE FRUTICULTUA 2018. Santa Cruz do Sul: Editora Gazeta, 2019. 90 p.

ANUÁRIO BRASILEIRO HORTI & FRUTI 2019. Santa Cruz do Sul: Editora Gazeta, 2020. 98 p.

ARAUJO, J. Química de alimentos: teoria e prática. In: (Ed.). **Química de alimentos: teoria e prática**: UFV, 2004.

ARAÚJO, P. G. L.; FIGUEREDO, R. W. D.; ALVES, R. E.; MAIA, G. A.; PAIVA, J. R. D. β -Carotene, ascorbic acid and total anthocyanins in fruit pulp of the acerola tree conserved by the cold for 12 months. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, Campinas, v. 27, n. 1, p. 104-107, 2009.

ARAÚJO, P. S. R de; MINAMI, K. **Acerola**. Campinas: Fundação Cargill, 1994. 81p.

ARUOMA, O. I. Free radicals, antioxidants and international nutrition. **Asia Pacific Journal of Clinical Nutrition**, Sidney, v. 8, n. 1, p. 53–63, 1999.

ASSOCIATION OF OFFICIAL ANALYTICAL CHEMISTRY - A. O. A. C. **Official methods of Analysis of the Association of Official Analytical Chemistry**. 18. ed. Maryland: AOAC, 2005.

ASTN (Associação das Indústrias Processadoras de Frutos Tropicais); **APEX** (Programa Setorial Integrado de Promoção de Exportações de Sucos Tropicais). Brasília, 2001.

BAHORUN, T.; SOBRATTEE, M. A.; NEERGHEEN, V. S.; LUXIMON-AMMA, A.; ARUOMA, O. I. Phenolics as potencial antioxidante therapeutic agentes: mechanism and actions. **Mutation Research**, Amsterdam, v. 579, p. 200-213, 2005.

BALASUNDRAM, N.; SUNDRAM, K.; SAMMAN, S. Phenolic compounds in plants and agriindustrial by-products: Antioxidant activity, occurrence and potencial uses. **Food Chemistry**, v. 99, p. 191-203, 2006.

BARATA-SOARES, A. D.; GOMEZ, M. L. P. A.; MESQUITA, C. H.; LAJOLO, F. M. Ascorbic acid biosynthesis: a precursor study on plants. **Brazilian Journal of Plant Physiology**, v. 16, n. 3, p. 147-154, 2004.

BARTOLI, C. G.; BUET, A.; GROZEFF, C. G.; GALATRO, A. SIMONTACCHI, M. Ascending glutathione cycle and tolerance to abiotic stress in plants. In: HOSSAIN, M. A.; MUNNÉ-BOSH, S. **Ácido Ascórbico no Crescimento, Desenvolvimento e Tolerância ao Estresse**. Springer, p. 177–200, 2017.

BATISTA, P. F.; LIMA, M. A. C. D.; ALVES, R. E.; FAÇANHA, R. V. Bioactive compounds and antioxidant activity in tropical fruits grown in the lower-middle São Francisco Valley. **Revista Ciência Agrônômica**, v. 49 n. 4, p. 616-623, 2018.

BERGMEYER, H. U.; GRASSL, M.; WALTER, H. E. **In methods of enzymatic analysis** (Bergmeyer, H. U. ed.) 3. ed., Volume II, p. 157-158, 1983.

BETAGLION, G. A. et al. Determination of the phenolic composition from Brazilian tropical fruits by UHPLC – Ms/Ms. **Food Chemistry**, Amsterdã, v. 180, p. 280-287, 2015.

BOEING, J. S. et al. Evaluation of solvent effect on the extraction of phenolic compounds and antioxidant capacities from the berries: application of principal component analysis. **Chemistry Central Journal**, v. 8, n. 1, p. 48, 2014.

BRADFORD, M. M. A rapid and sensitive method for the quantification of microgram quantities of protein utilising the principle of protein-dye binding. **Analytical Biochemistry**. v. 72, p. 248-254, 1976.

CALBO, A. G.; MORETTI, C. L.; HENZ, G. P. **Uso do porômetro em estufa de pós-colheita de frutas e hortaliças**. Brasília, DF: Embrapa Hortaliças, 2007. 12 p. (Embrapa Hortaliças. Comunicado Técnico, 52).

CALGARO, M.; BRAGA, M. (Ed.). **Coleção Plantar: acerola**. Brasília, DF, 2012. 150 p.

CALGARO, M.; BRAGA, M. B. A cultura da acerola. - 3. ed. **rev. ampl.** - Brasília, DF: Embrapa, 2012, 144p.

CARDELLO, H. M. A. B.; CARDELLO, L. Teor de vitamina c, atividade de ascorbato oxidase e perfil sensorial de manga (*Mangíferaíndica* L.) var. Haden, durante o amadurecimento. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, Campinas, v. 18, n.2, p. 211-217, 1998.

CARRINGTON, C. M. S.; KING, R. A. G. Fruit development and ripening in Barbados cherry, *Malpighia emarginata* D.C. **Scientia Horticulturae**, Amsterdã, v. 92, p. 1-7, 2002.

CHEN, J.; WANG, X. Experimental instruction of plant physiology. **South China University of Technology Press**, Guangzhou, v. 1, n. 3, p. 124, 2002.

CHITARRA, M. I. F.; CHITARRA, A. B. **Pós-colheita de frutas e hortaliças: fisiologia e manuseio**. 2°. ed. Lavras: UFLA, 2005, 785p.

COELHO, Y.S.; RITZINGER, R.; OLIVEIRA, J. R. P. et al. Proacerola: Programa de desenvolvimento da Cultura da Acerola no Estado da Bahia. In: REUNIÃO ANUAL DA SOCIEDADE INTERAMERICANA DE HORTICULTURA TROPICAL, 49., 2003, Fortaleza, **Abstract**. Fortaleza: Sociedade Interamericana de Horticultura Tropical, 2003. 303 p.

COSTA, L. C.; PAVANI, M. C. M. D.; MORO, F. V.; PERECIN, D. Viabilidade de sementes de acerola (*Malpighia emarginata* DC): Avaliação da vitalidade dos tecidos. **Revista Brasileira de Fruticultura**, v. 25, n.3, p. 532-534.

CONCELLÓN, A.; AÑÓN, M. C.; CHAVES, A. R. Characterization and changes in polyphenol oxidase from eggplant fruit (*Solanum melongena* L.) during storage at low temperature. **Food Chemistry**, Amsterdã, v. 88, p. 17-24, 2004.

DE ROSSO, V. V. HILLEBRAND, S.; MONTILLA, E. C.; BOBBIO, F. O.; WINTERHALTER, P.; MERCADANTE, A. Z. Determination of anthocyanins from acerola (*Malpighia emarginata* DC.) and açaí (*Euterpe oleracea* Mart.) by HPLC-PDA-MS/MS. **Journal of Food Composition and Analysis**, v. 21, n. 4, p. 291–299, 2008.

DELGADO-VARGAS, F.; JIMÉNEZ, A. R.; PAREDES-LÓPEZ, O. Natural pigments: carotenoids, anthocyanins, and betalains—characteristics, biosynthesis, processing, and stability. **Critical reviews in food science and nutrition**, v. 40, n. 3, p. 173-289, 2000.

DELVA L.; SCHENEIDER, R. G. Acerola (*Malpighia emarginata* DC): Acerola (*Malpighia emarginata* DC): production, Postharvest Handling, Nutrition, and Biological Activity. **Food Reviews International**, v. 29, p. 107–126, 2013.

DELVA, L.; GOODRICH, R. Anthocyanin identification, vitamin C content, and antioxidant capacity of acerola (*Malpighia emarginata* DC.) juices. **Proceedings Florida State Horticulture Society**, Flórida, v. 123, p. 223-227, 2010.

DEMBITSKY, V. M.; POOVARODOM, S.; LEONTOWICZ, H.; LEONTOWICZ, M.; VEARASILP, S.; TRAKHTENBERG, S.; GORINSTEIN, S. The multiple nutrition

properties of some exotic fruits: biological activity and active metabolics. **Food Research International**, Amsterdã, v. 44, p. 1671-1701, 2011.

EDREVA, A. VELIKOVA, V.; TSONEY, T.; DAGNON, S.; GUREL, A.; AKTAS, L.; GESHEVA, E. Stress-protective role of secondary metabolites: Diversity of functions and mechanisms. **Genetic Applied Plant Physiology**, Bulgária, v. 34, p. 67-78, 2008.

EL-SHORA, H. M. Properties of phenylalanine ammonia-lyase from Marrow cotyledons. **Plant Science**, Londres, v. 162, p. 1-7, 2002.

ESCRIBANO, J. CABANES, J.; CHAZARRA, S.; GARCIA-CARMONA, F. Characterization of monophenolase activity of table beet polyphenol oxidase. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, v. 45, p. 4209-4214, 1997.

FERREIRA, R. M. A.; AROUCHA, E. M. M.; SOUZA, P. A.; QUEIROZ, R. F.; FILHO, F. S. T. P. Ponto de colheita da acerola visando à produção industrial de polpa. **Revista Verde**, Mossoró, RN, v.4, n.2, p.13-16, 2009.

FERRER, J. L. AUSTIN, M. B., STEWART Jr, C.; NOEL, J. P. Structure and function of enzymes involved in the biosynthesis of phenylpropanoids. **Plant Physiology Biochemistry**, Nova York, v. 46, p. 356-370, 2008.

FIGUEIREDO NETO, A.; REIS, D. S.; ALVES, E.; GONÇALVES, E.; ANJOS, F. C.; FERREIRA, M. Determinação de vitamina C e avaliação físico-química em três variedades de acerola cultivadas em Petrolina. **Nucleus**, Ituverava, v. 11, n. 1, p. 83-92, 2014.

FOTI, M.; PIATTELLI, M.; AMICO, V.; RUBERTO, G. Antioxidant activity of phenolic meroditerpenoids from marine algae. **Journal of Photochemistry and Photobiology**, Amsterdã, v. 26, n. 2, p.159-164, 1994.

FOYER, C. H.; NOCTOR, G. Ascorbate and glutathione: the heart of the redox hub. **Plant Physiology**, Amsterdã, v. 155, p. 2-18, 2011.

FRANCIS, F. J. Analysis of anthocyanins. In: MARKAKIS, P. (ed.). **Anthocyanins as food colors**. New York: Academic Press, p.181-207, 1982.

FREITAS, C. A. S. de.; MAIA, G. A.; COSTA, J. M. C. da.; FIGUEIREDO, R. W. de.; SOUSA, P. H. M. de. Acerola: produção, composição, aspectos nutricionais e produtos. **Revista Brasileira de Agrociência**, Pelotas, v. 12, n. 4, p. 395-400, 2006.

FURLANETO, F. P. B.; NASSER, M. D. Panorama da cultura da acerola no Estado de São Paulo. **Revista Pesquisa & Tecnologia**, vol. 12, n. 1, 2015.

GIOVANNONI, J. J. Genetic regulation of fruit development and ripening. **The Plant Cell**. v. 16, p.170-180, 2004.

GIOVANNONI, J. J. Molecular biology of fruit maturation and ripening. **Annual Review of Plant Physiology and Plant Molecular Biology**. v. 52, p. 725-749, 2001.

GOMEZ, M. L. P. A.; LAJOLO, F. M. Ascorbic acid metabolism in fruits: Activity of enzymes involved in synthesis and degradation during ripening in mango and guava. **Journal of the Science of Food and Agriculture**. v. 88, p. 756-762, 2008.

GONZAGA NETO, L.; MATTUZ, B-H; SANTOS, C. A. F. Caracterização agrônômica de clones de aceroleira (*Malpighia* spp.) na região do submédio São Francisco. **Revista Brasileira de Fruticultura**, v. 21, n. 2, p. 110-115, 1999.

HANAMURA, T.; HAGIWARA, T.; KAWAGISHI, H. Structural and functional characterization of polyphenols isolated from acerola (*Malpighia emarginata* D.C) fruit. **Bioscience Biotechnology and Biochemistry**, v. 69, p. 280-286, 2005.

HANAMURA, T; USHIDA, E.; AOKI, H. Changes of the composition in acerola (*Malpighia emarginata* D.C) fruit in relation to cultivar, growing region and maturity. **Journal of the Science of Food and Agriculture**. v. 88, p. 1813–1820, 2008.

HAZA, A. I. et al. Vitamin C Protects from Oxidative DNA Damage and Apoptosis Caused by Food N-Nitrosamines. In: KUCHARSKI, Hubert; ZAJAC, Julek (Ed.). **Handbook of Vitamin C Research**, New York, Nova Science Publishers, p. 87-127, 2009.

HUBER, L. S.; RODRIGUEZ-AMAYA, D. B. A. Flavonóis e flavonóis: fontes brasileiras e fatores que influenciam a composição em alimentos. **Brazilian Journal of Food and Nutrition**. v. 19, n. 1, p. 97-108, 2008.

IAL (INSTITUTO ADOLFO LUTZ). **Normas analíticas, métodos químicos e físicos para análises de alimentos**, v. 1, 3 ed. São Paulo, 1985.

IBGE. **SIDRA**: levantamento sistemático da produção agrícola. Rio de Janeiro, 2018.

JACOMINO, A. P.; ARRUDA, M. C., BRON, I. U.; KLUGE, R. A. Transformações Bioquímicas em Produtos Hortícolas após a Colheita. In.: KOBLITZ, M. G. B. **Bioquímica de Alimentos: Teoria e Aplicações Práticas**. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2008. 242 p.

JUNQUEIRA, K. P.; PIO, R.; VALE, M. R.; RAMOS, J. D. (2016) **Cultura da Aceroleira** (*Malpighia Glabra* L.). Disponível em: <http://www.editora.ufla.br/bolextensao/pdfbe/bo1_26.pdf>.

KULBAT, K. The role of phenolic compounds in plant resistance. **Biotechnology Food Science**, Roma, v. 80, n. 2, p. 97-108, 2016.

LARRAURI, J. A.; RUPÉREZ, P.; SAURA-CALIXTO, F. Effect of drying temperature on the stability of polyphenols and antioxidant activity of red grape pomace peels. **Journal Agricola Food Chemistry**, Milão, v. 45, p. 1390-1393.1997.

LEE, J.; DOSSETT, M.; FINN, C. E. Rubus fruit phenolic research: the good, the bad, and the confusing. **Food Chemistry**, v. 130, n. 4, p. 785–796, 2012.

LICHTENTHALER, H. K.; WELLBURN, A. R. Determinations of total carotenoids and chlorophylls *a* and *b* of leaf extracts in different solvents. **Biochemical Society Transactions**, v. 11, n. 5, p. 591–592, 1983.

LIMA, V. L. A. G.; MÉLO, E. A.; MACIEL, M. I. S.; PRAZERES, F. G.; MUSSER, R. S.; LIMA, D. E. S. Total phenolic and carotenoid contents in acerola genotypes harvested at three ripening stages. **Food Chemistry**. v. 90, p. 565-568, 2005.

LIMA, V. L. A. G.; PINHEIRO, I. O.; NASCIMENTO, M. S.; GOMES, P. B.; GUERRA, N. B.; GUERRA, N. B. Identificação de antocianinas em frutos de aceroleiras do banco ativo de germoplasma da Universidade Federal Rural de Pernambuco. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, Campinas, v. 26, n. 4, p. 927-935, out./dez. 2006.

LIN, D. et al. An overview of plant phenolic compounds and their importance in human nutrition and management of type 2 diabetes. **Molecules**, Pequim, v. 21, n. 3, p. 1374-1392, 2016.

LIU, H.; SONG, L.; YOU, Y.; LI, Y.; DUAN, X.; JIANG, Y.; JOICE, D. C.; ASHRAF, M.; Lu, W. Cold storage duration affects litchi fruit quality, membrane permeability, enzyme

activities and energy charge during shelf time at ambient temperature. **Postharvest Biology and Technology**, Amsterdã, v. 60, p. 24-30, 2011.

LOPES, Mônica Maria de Almeida. **Efeitos da luz pulsada no metabolismo e nas características físico-químicas de frutos de manga “Tommy Atkins” durante o armazenamento**. 2015. 144 f. Tese (doutorado em bioquímica) - Universidade Federal do Ceará, Fortaleza, 2015.

LOPES, R.; PAIVA, J. R. Aceroleira. In: BRUCKNER, C. H. (Ed.). **Melhoramento de fruteiras tropicais. Viçosa**. UFV, 2002. p. 63-69.

LUO, W.; ZHAO, M.; YANG, B.; REN, J.; SHEN, G.; RAO, G. Antioxidant and ant proliferative capacities of phenolics purified from *Phyllanthusemblica* L. fruit. **FoodChemistry**, Amsterdã, v. 126, p. 277-282, 2011.

MACIEL, M. I. S.; MELO, E.; LIMA, V.; SOUZA, K. A.; SILVA, W. Caracterização físico-química de frutos de genótipos de aceroleira (*Malpighia emarginata* DC.). **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, Campinas, v. 30, n. 4, p. 865-869, 2010.

MANZOCCO, L. CALLIGARIS, S.; MASTROCOLA, D.; NICOLI, M. C.; LERICI, C. R. Review of non-enzymatic browning and antioxidant capacity in processed foods. **Trends in Food Science & Technology**, Tóquio, v. 11, n. 10, p. 340-346, 2000.

MARIANO-NASSER, F. A. NASSER, M. D.; FURLANETO, K. A.; RAMOS, J. A.; VIETES, R. L.; PAGLIARINI, M. K. Bioactive compounds in different acerola fruit cultivares. **Semina: Ciências Agrárias**, Londrina, v. 38, n. 4, p. 2505-2514, 2017.

MARINO NETTO, L. **Acerola, a cereja tropical**. São Paulo: Nobel, 1986. 94p.

MARQUES, T. R.; CORRÊA, A. D.; LINO, J. B. D. R.; ABREU, C. M. P. D.; SIMÃO, A. A. Chemical constituents and technological functional properties of acerola (*Malpighia emarginata* DC.) waste flour. **Food Science Technology**, Amsterdã, v. 33, n. 3, p. 526-531, 2013.

MELO, E. A.; MACIEL, M. I. S.; LIMA, V. L. A. G.; LEAL, F. L. L.; CAETANO, A. S.; NASCIMENTO, R. J. Capacidade antioxidante de hortaliças usualmente consumidas. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, Campina, v. 26, n. 3, p. 639-644, 2006.

MEZADRI, T. VILLAÑO, D.; FERNÁNDEZ-PACHÓN, M. S.; GARCIA-PARRILLA, M. C., TRONCOSO, A. M. Antioxidant compounds and antioxidant activity in acerola (*Malpighia emarginata* DC.) fruits and derivatives. **Journal of Food Composition and Analysis**, v. 21, n. 4, p. 282–290, 2008.

Ministério da Agricultura Pecuária e Abastecimento. Instrução normativa n. 1 de 07 de janeiro de 2000. Padrão de identidade e qualidade para polpas de frutas. **Diário Oficial da União**, Brasília, DF, 10 jan. 2000. Seção 1, p. 54.

MORAIS, P. L. D; MIRANDA, M. R. A. de.; LIMA, L. C. O; ALVES, J. D; ALVES, R. E; SILVA, J. D. Cell wall biochemistry of sapodilla (*Manilkara zapota*) submitted to 1-methylcyclopropene. **Brazilian Journal of Plant Physiology**. v. 20, n. 2, p. 85-94, 2008.

MOREIRA, G. E. G.; COSTA, M. G. M.; SOUZA, A. C. R.; BRITO, E. S.; MEDEIROS, M. F. D.; AZEREDO, H. M. C. Physical properties of spray dried acerola pomace extract as affected by temperature and drying aids. **LWT - Food Science and Technology**, Zurich, v. 42, n. 2, p. 641-645, 2009.

MORI, T.; SAKURAI, M.; SAKUTA, M. Effects of conditional medium on activities of PAL, CHS, DAHP synthases (DS-Co and Ds-Mn) and anthocyanin production in suspension cultures of *Fragariaananassa*. **Plant Science**, Londres, v. 160, p. 355-360, 2001.

MORTON, J. F. **Fruits of Warm Climates**. Julia F. Morton, Publisher, 1987, p. 204-209.

MURATA, M.; NODA, I.; HOMMA, S. Enzymatic browning of apples on the market: relationship between browning, polyphenol content, and polyphenol oxidase. **Hort Science**, Londres, v. 42, n. 10, p. 820-826, 1995.

NAKANO, Y.; ASADA, K. Hydrogen peroxide is scavenged by ascorbate specific peroxidases in spinach chloroplast. **Plant Cell Physiology**, Amsterdã, v. 22, p. 867-880, 1981.

NASSER, M. D.; MARIANO-NASSER, F. A. C.; FURLANETO, K. A.; RAMOS, J. A.; CAETANO, P. K. Composição da acerola de diferentes genótipos em duas épocas de colheita. **Nativa**, Sinop, v.6, n.1, p. 15-19, fev. 2018.

NASSER, M. D.; ZONTA, A. Caracterização de frutos de genótipos de aceroleira em função de estádios de maturação. **Tecnologia & Ciência Agropecuária**, João Pessoa, v. 8, n. 5, p. 76-78, 2014.

NOGUEIRA, R. J. M. C.; MORAES, J. A. P. V.; BURITY, H. A.; JÚNIOR, J. F. S. Efeitos do estágio de maturação dos frutos nas características físico-químicas da acerola. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v. 37, n. 4, p. 463-470, 2002.

OBANDA, M.; OWUOR, P. O. Flavanol composition and caffeine content of green leaf as quality potential indicators of kenyan black teas. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, Cabul, v. 74, n. 2, p. 209-215, 1997.

OLIVEIRA, J. R. P.; SOARES FILHO, W. S. Situação da cultura da acerola no Brasil e ações da Embrapa Mandioca e Fruticultura em recursos genéticos e melhoramento. In: SIMPÓSIO DE RECURSOS GENÉTICOS E MELHORAMENTO DE PLANTAS PARA O NORDESTE DO BRASIL, 1998, Petrolina, **Anais**. Petrolina: Embrapa Semiárido, 1998.

OLIVEIRA, L. M. N.; DA SILVA, L. M. R.; DE LIMA, A. C. S.; DE ALMEIDA, R. R., RICARDO, N. M. P. S., DE FIGUEREDO, E. A. T.; DE FIGUEREDO, R. W. Characterization of rutin, phenolic compounds and antioxidant capacity of pulps and by-products of tropical fruits. **Research, Society and Development**, v. 9, n. 4, p. 42942812, 2020.

OLIVEIRA, L. S.; MOREIRA, S. P.; MOURA, C. F. H.; MIRANDA, M. R. A. ARAGÃO, F. A. S. Qualidade pós-colheita durante o amadurecimento de frutos de clones de aceroleira. **Embrapa Agroindústria Tropical-Boletim de Pesquisa e Desenvolvimento (INFOTECA-E)**. 2012.

OLIVEIRA, L. S.; RUFINO, M. S. M.; MOURA, C. F. H.; CAVALCANTI, F. R.; ALVES, R. E.; MIRANDA, M. R. A. The influence of processing and long-term storage on the antioxidant metabolism of acerola (*Malpighia emarginata* D.C) purée. **Brazilian Journal of Plant Physiology**. v. 23, n. 2, p. 151-160, 2011.

OLIVEIRA, Luciana de Siqueira. **Avaliação da qualidade pós-colheita e capacidade antioxidante durante o armazenamento das polpas de seis clones de aceroleira**. 2008. 107 f. Dissertação (Mestrado em bioquímica) - Universidade Federal do Ceará, Fortaleza - CE, 2008.

- OLIVEIRA, Luciana de Siqueira. **Avaliação do metabolismo antioxidante durante o desenvolvimento de frutos de clones de aceroleira e sapotizeiro**. 2012. 107 f. Tese (Doutorado em bioquímica) - Universidade Federal do Ceará, Fortaleza - CE, 2012.
- PAIVA, J. R. D. ALVES, R. E.; CORREA, M. P. F.; FREIRA, F. D. C. O.; SOBRINHO, B. R. Seleção massal de acerola em plantio comercial. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**. Brasília, v. 34, n. 3, p. 505-511, 1999.
- PARKIN, K. L. Enzimas. In.: DAMODARAN, S.; PARKIN, K.; FENNEMA, O.R. **Química de Alimentos de Fennema**. 4. ed. Porto Alegre: Artmed, 2010. 900 p.
- QUOC, L. P. T.; HOA, D. P.; NGOC, H. T. B.; PHI, T. T. Y. Effect of xanthan gum solution on the preservation of acerola (*Malpighia glabra* L). **Cercetari Agronomice in Moldova**, Moldávia, v. 48, n. 3, p. 89- 97, 2015.
- RABELO, Marcela Cristina. **Efeitos da luz pulsada sobre o metabolismo de vitamina c e compostos fenólicos em acerola (*Malpighia emarginata* DC)**. 2016. 77 f. Tese (Doutorado em bioquímica) - Universidade Federal do Ceará, Fortaleza - CE, 2016.
- RIBEIRO, B. S.; DE FREITAS, S. T. Maturity stage at harvest and storage temperature to maintain postharvest quality of acerola fruit. **Scientia Horticulturae**, v. 260, p. 108901, 2020.
- RICE-EVANS, C. A.; MILLER, N. J.; BOLWELL, P. G.; BRAMLEY, P. M.; PRIDHAM, J. B. The relative antioxidant activities of plant-derived polyphenolic flavonoids. **Free Radicals Research**, Tóquio, v. 22, p. 375-83, 1995.
- RIGUETTO, A. M.; NETTO, F. M. CARRARO, F. Chemical composition and antioxidant activity of juices from mature and immature acerola (*Malpighia emarginata* DC). **Food science and technology international**, v. 11, n.4, p. 315-321, 2005.
- RITZINGER, R.; RITZINGER, C. H. S. P. Acerola. **Informe Agropecuário**. v. 32, n. 264, p. 17- 25, 2011.
- RITZINGER, R.; RITZINGER, C. H. S. P.; FONSECA, N.; MACHADO, C. D. F. Avanços na propagação da aceroleira. **Revista Brasileira de Fruticultura**, v. 40, n. 3, 2018.
- RITZINGER. R.; KOBAYASHI, A. K.; OLIVEIRA, J. R. P. **A cultura do fruto da aceroleira**. Cruz das Almas: Embrapa Mandioca e Fruticultura, 2003. 198p.

- ROBINSON, D. S. **Food Biochemistry and nutritional value**. Logman scientific and technical: Essex. 1987, 320 p.
- RODRIGUEZ-AMAYA, D. B. A.; KIMURA, M.; AMAYA-FARFAN, J. **Fontes brasileiras de carotenoides: tabela brasileira de composição de carotenoides em alimentos**. Brasília, DF: MMA/SBF, 2008. 100 p.
- RUFINO, M. S. M.; ALVES, R. E.; BRITO, E. S.; MORAIS, S. M.; SAMPAIO, C.G.; PÉREZJIMENEZ, J.; SAURA-CALIXTO, F.D. **Metodologia Científica: Determinação da atividade antioxidante total em frutas pela captura do radical livre ABTS.+**. Embrapa Agroindústria Tropical, 2006. 4 p. (Embrapa Agroindústria Tropical. Comunicado Técnico, 128).
- SANTOS, S. M. L.; VASCONCELOS, A. M.; OLIVEIRA, V. S.; CLEMENTE, E.; COSTA, J. M. C. Evaluation of physical and physicochemical characteristics of *Malpighia emarginata* D.C. from the state of Ceará. **International Journal of Biochemistry. Research and Review**, West Bengal, v. 2, n. 4, p. 152-163, 2012.
- SAZAN, M. S.; QUEIROZ, E. P.; FERREIRA-CALIMAN, M. J.; PARRA-HINOJOSA, A.; SILVA, C. I. D.; GARÓFALO, C. A. **Manejo de polinizadores da aceroleira**. Ribeirão Preto, SP: Holos, 2014.
- SCALZO, J.; POLITI, A.; PELEGRINI, N.; MEZZETI, B.; BATTINO, M. Plant genotype affects total antioxidant capacity and phenolic contents in fruit. **Nutrition**, v. 21, n. 2, p. 207-213, 2005.
- SMIRNOFF, N. Ácido ascórbico Wheeler GL em plantas: Biossíntese e função. **Crit. Revista Planta Science**, v. 19, p. 267-290, 2000.
- SOBRINHO, R. B.; BANDEIRA, C. T.; ALVES, R. E. **Acerola, a cereja tropical**. Artigo 2847. Fortaleza: EMBRAPA-CNPAT, 2001.
- SOJO, M. M.; NUÑEZ-DELICADO, E.; GARCÍA-CARMONA, F. Partial purification of a banana polyphenol oxidase using triton X-114 and PEG 8000 for removal of polyphenols. *Journal Agricola* **Food Chemistry**, Amsterdã, v. 46, p. 4924-4930, 1998.
- SOUZA, K. O MOURA, C. F. H.; BRITO, E. S.; MIRANDA, M. R. A. Antioxidant compounds and total antioxidant activity in fruits of acerola from cv. Flor Branca, Florida

Sweet and BRS 366. **Revista Brasileira de Fruticultura**, Jaboticabal, v. 36, n. 2, p. 294-304, 2014.

SOUZA, Kellina Oliveira de. **Qualidade e metabolismo antioxidante no desenvolvimento de frutos de clones de aceroleira**. 2012. 84 f. Dissertação (Mestrado em Agronomia/Fitotecnia) - Centro de Ciências Agrárias, Universidade Federal do Ceará, Fortaleza, 2012.

SOUZA, M. J. H.; GUIMARÃES, M. C. A.; GUIMARÃES, C. D. L.; FREITAS, W. S.; OLIVEIRA, A. M. S.; Potencial agroclimático para a cultura da acerola no Estado de Minas Gerais. **Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental**. Campina Grande, v. 10, n. 2, p. 390-396, 2006.

TAIZ, L.; ZEIGER, E. **Fisiologia Vegetal**. Porto Alegre, 4º Ed., Artmed, 2009, 848p.

TAIZ, L.; ZEIGER, E. **Fisiologia vegetal**. 6. ed. Porto Alegre: Artmed, 2017.

VENDRAMINI, A. A.; TRUGO, L. C. Phenolic compounds in acerola fruit (*Malpighia puniceifolia*, L.). **Journal of the Brazilian Chemical Society**, v. 15, n. 5, p. 664-668, 2004.

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

VIANA, E. D. S.; REIS, R.; RITZINGER, R.; DE JESUS, J. L.; SANTOS JÚNIOR, R. D. S.; CORDEIRO, Z. Caracterização físico-química e de compostos bioativos de acerola orgânica. **Embrapa Mandioca e Fruticultura-Boletim de Pesquisa e Desenvolvimento (INFOTECA-E)**, 2017.

YAN, S. LI, L.; HE, L.; LIANG, L.; LI, X. Maturity and cooling rate affects browning, polyphenol oxidase activity and gene expression of Yali pears during storage. **Postharvest Biology and Technology**, Amsterdã, v. 85, p. 39-44, 2013.

YANG, Z.; ZHENG, Y.; CAO, S. Effect of high oxygen atmosphere on quality, antioxidant enzymes, and DPPH-radical scavenging activity of Chinese bayberry fruit. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, Amsterdã, v.57, p.176-181, 2009.

YORUK, R.; MARSHALL, M. R. Physicochemical properties and function of plant polyphenol oxidase: a review. **Journal of Food Biochemistry**, Londres, v. 27, p. 361- 422, 2003.

ZECHMANN B. Distribuição subcelular de ascorbato em plantas. **Plant Signaling & Behavior**, v. 6, n. 3, p. 360-363, 2011.

ZECHMANN B.; STUMPE, M.; MAUCH, F. Determinação imunocitoquímica da distribuição subcelular de ascorbato em plantas. **Planta**, v. 233, p. 1-12, 2011.

ZERAIK, A. E.; SOUZA, F. S.; FATIBELLO-FILHO, O.; LEITE, O. D. Desenvolvimento de um spot test para o monitoramento da atividade da peroxidase em um procedimento de purificação. **Química Nova**, v. 31 n. 4, p. 731-734, 2008.

ZIMMERMANN, P.; ZENTGRAF, U. The correlation between oxidative stress and leaf senescence during plant development. **Cellular and Molecular Biology Letters**, v. 10, p. 515- 534, 2005.