

**Solange Ferreira Oliveira**

Estudo das propriedades físico-químicas e avaliação de compostos bioativos em *Physalis peruviana* L.

**Dissertação**

Mestrado em Qualidade e Tecnologia Alimentar

Julho, 2016



**Solange Ferreira Oliveira**

Estudo das propriedades físico-químicas e avaliação de compostos bioativos em *Physalis peruviana* L.

**Dissertação**

Mestrado em Qualidade e Tecnologia Alimentar

Trabalho efetuado sob orientação de  
Prof. Doutora Raquel Guiné

Trabalho co-orientado por  
Prof. Doutor Fernando Gonçalves  
Prof. Doutora Paula Correia

Julho, 2016



Dissertação apresentada à  
Escola Superior Agrária do Instituto Politécnico de Viseu  
para obtenção do grau de  
Mestre em Qualidade e Tecnologia Alimentar

As doutrinas expressas neste trabalho  
são da exclusiva responsabilidade do autor.

## **AGRADECIMENTOS**

À minha orientadora, Prof. Doutora Raquel Guiné, pelo apoio neste trabalho, pela sincera amizade, pelos conselhos e pela confiança, e os meus co-orientadores Prof. Doutor Fernando Gonçalves e Prof. Doutora Paula Correia, pela excelente orientação científica, pela revisão do trabalho, pelos esclarecimentos, opiniões e sugestões. Agradeço a total disponibilidade em todo o trabalho desenvolvido, empenho na condução do trabalho experimental, pelos conhecimentos transmitidos, pela ajuda, colaboração, amizade e por todo o apoio. Obrigada a Todos.

À D<sup>a</sup> Bina e Engenheiro Rui Coutinho pela ajuda e pelos momentos passados no laboratório.

Aos meus pais, por estarem sempre ao meu lado e por tamanho amor que as palavras dificilmente irão traduzir. Obrigada por todos os esforços, e por me apoiarem incondicionalmente.

À minha irmã Catarina por tudo o que somos e passamos juntas e ao Filipe pela ajuda e motivação.

À minha família, pela união e preocupação constante comigo e por fazerem parte da minha vida.

Ao Tiago, pelo companheirismo, apoio e carinho.

Às minhas amigas Ana Beatriz Elvas, Sónia Andrade, Andreia Pina, Márcia Gonçalves, Ana Costa, Ana Patrícia, amigas que este mestrado me proporcionou conhecer e partilhar momentos incríveis. Amigas essas que se tornaram parte da minha família.

Aos meus amigos que não citei os nomes, mas que sei que posso confiar e que estarão sempre junto de mim.

Enfim, a todos aqueles que, direta ou indiretamente, contribuíram para a realização deste trabalho e para o meu crescimento pessoal e profissional, o meu muito obrigado.

## RESUMO

O rápido crescimento da procura e na produção de *Physalis* está associado às suas características nutracêuticas e medicinais, por estarem associadas ao bem-estar e à saúde. O reconhecimento e o conceito da qualidade dos frutos é cada vez mais importante, abrangendo a aparência do produto, o aroma, a textura e o valor nutricional.

Com a realização deste trabalho pretendeu-se avaliar as propriedades físico-químicas das bagas de *physalis*, bem como os conteúdos em compostos bioativos com potenciais benefícios para a saúde humana.

Neste trabalho foi avaliada uma variedade de *physalis* (*Physalis peruviana* L.), sendo os frutos provenientes de uma exploração localizada na região Norte-Centro de Portugal. Foram realizadas análises físicas às *physalis* frescas, tendo sido determinados o calibre, a cor e a textura. Na análise química, realizaram-se as determinações, da humidade, da fibra bruta, dos açúcares totais e redutores, da acidez total titulável, do teor de sólidos solúveis totais, do ácido ascórbico, dos carotenoides, dos compostos fenólicos totais, dos orto-difenóis e dos flavonóides. Foi ainda determinada a atividade antioxidante pelos métodos ABTS e DPPH e os extratos submetidos a condições simulantes do trato digestivo.

As *physalis* em estudo apresentaram, em média um diâmetro de 1,69 cm e uma massa de 2,77 g. Relativamente à cor, as bagas apresentaram-se claras, ( $L^*=65,72$ ), e com uma tendência para a cor vermelha ( $a^*=16,69$ ), e uma forte intensidade amarela ( $b^*=58,11$ ). No que diz respeito à textura, a firmeza foi de 2,40 N e a elasticidade foi de 2,94 mm.

Quanto à caracterização química foram encontrados os seguintes resultados: 83,02% de água, 4,61% de fibra, 8,79% de açúcares totais, 1,25% de acidez total, expressa em ácido cítrico. A amostra continha ainda 5,95 µg/g de carotenoides 26,7 mg de ácido ascórbico por 100 g

Os valores de fenóis totais (42,74 e 59,95 mg EAG/100 g) e de atividade antioxidante determinada pelo método DPPH (7,73 e 9,61 µmol TE/g), e pelo método ABTS (12,28 e 13,71 µmol TE/g) variam de acordo com as condições de extração. Verificou-se ainda uma correlação forte entre os dois métodos. No que diz respeito às condições *in vitro* de simulação das condições do trato digestivo, verificou-se um

decréscimo ao longo do trato digestivo tanto no teor em compostos fenólicos bem como na atividade antioxidante. Em termos globais houve uma retenção de 43% dos compostos fenólicos totais e 26% da atividade antioxidante.

**Palavras-chave:** *Physalis peruviana* L; propriedades físico-químicas; compostos fenólicos; atividade antioxidante; bioacessibilidade.

## ABSTRACT

The rapid growth in demand and production of Physalis is associated with its nutraceutical and medicinal properties, being associated with well-being and health. The recognition and concept of the quality of the fruit is increasingly important, including product appearance, aroma, texture and nutritional value.

With this work was intended to evaluate the physicochemical properties of physalis berries, as well as the content in bioactive compounds with potential benefits for human health.

This work was carried out on fruits from a variety of physalis (*Physalis peruviana* L.), and the fruit from a farm located in the North Central region of Portugal. The physical analysis to fresh physalis were performed being determined the size, color and texture. The chemical analysis, there were the determinations of moisture, crude fiber, total and reducing sugars, total acidity, the total soluble solids content of ascorbic acid, of carotenoids, total phenolics, the ortho- diphenols and flavonoids. It was also determined the antioxidant activity by ABTS and DPPH methods and extracts subjected to simulants conditions of the digestive tract.

The physalis study showed on average a diameter of 1.69 cm and a mass of 2.77 g. Regarding color, the berries were presented clear ( $L^*=65.72$ ) and with a tendency to redness ( $a^*=16.69$ ), and a strong yellow intensity ( $b^*=58.11$ ). Regarding the texture, firmness was 2.40 N and the elasticity was 2.94 mm.

As for chemical characterization the following results were found: 83.02% water, 4.61% fiber, 8.79% of total sugars, 1.25% of total acidity, expressed as citric acid. The sample also contained 5.95  $\mu\text{g/g}$  of carotenoid and 26.7 mg of ascorbic acid per 100 g

The total phenols values (42.74 and 59.95 mg GAE/100 g) and antioxidant activity determined by DPPH method (7.73 and 9.61 micromol TE/g), and the ABTS method (12.28 and 13.71 micromol TE/g) may vary according to the extraction conditions. There was still a strong correlation between the two methods. With regard to in vitro conditions simulating the conditions of the digestive tract, there was a decrease along the digestive tract in both the content of phenolics and antioxidant activity. Overall there was retention of 43% phenolic compounds and 26% of the antioxidant activity.

**Keywords:** *Physalis peruviana* L; physicochemical properties; phenolic compounds; antioxidant activity; bioaccessibility.

# ÍNDICE GERAL

<b>AGRADECIMENTOS</b> .....	<b>III</b>
<b>RESUMO</b> .....	<b>IV</b>
<b>ABSTRACT</b> .....	<b>VI</b>
<b>ÍNDICE GERAL</b> .....	<b>VIII</b>
<b>ÍNDICE DE FIGURAS</b> .....	<b>XI</b>
<b>ÍNDICE DE TABELAS</b> .....	<b>XIV</b>
<b>LISTA DE ABREVIATURAS</b> .....	<b>XV</b>
<b>I. INTRODUÇÃO</b> .....	<b>1</b>
1. ENQUADRAMENTO GERAL .....	2
2. OBJETIVOS.....	3
<b>II. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA</b> .....	<b>4</b>
3. PHYSALIS .....	5
3.1. <i>Origem da Physalis peruviana L.</i> .....	5
3.2. <i>Aspetos botânicos</i> .....	6
3.3. <i>Controlo das plantações</i> .....	9
3.4. <i>Qualidade pós-colheita da physalis</i> .....	10
3.5. <i>Importância nutricional da physalis</i> .....	11
3.6. <i>Usos e propriedades medicinais</i> .....	12
3.7. <i>Produção em Portugal</i> .....	14
4. ASPETOS DA QUALIDADE.....	14
4.1. <i>Cor</i> .....	16
4.2. <i>Textura</i> .....	17
4.3. <i>Aroma</i> .....	18
5. COMPOSTOS BIOATIVOS .....	19
5.1. <i>Compostos fenólicos</i> .....	20
5.1.1. <i>Flavonóides</i> .....	21
5.1.2. <i>Não-Flavonóides</i> .....	23

5.2. <i>Atividade antioxidante</i> .....	24
6. BIOACESSIBILIDADE .....	25
<b>III. DESENVOLVIMENTO EXPERIMENTAL</b> .....	<b>28</b>
7. MATERIAL E MÉTODOS .....	29
7.1. <i>Colheita das amostras</i> .....	29
7.2. <i>Análises físicas</i> .....	29
7.2.1. Características Biométricas .....	29
7.2.2. Cor .....	30
7.2.3. Textura.....	32
7.3. <i>Análises químicas</i> .....	33
7.3.1. Humidade.....	34
7.3.2. Fibra Bruta .....	34
7.3.3. Açúcares Totais .....	35
7.3.4. Açúcares Redutores .....	38
7.3.5. Determinação da acidez titulável .....	40
7.3.6. Determinação do teor de sólidos solúveis (°Brix).....	40
7.3.7. Determinação do ácido ascórbico.....	41
7.3.8. Determinação dos carotenoides .....	42
7.4. <i>Obtenção dos Extratos para a caracterização fenólica</i> .....	44
7.5. <i>Análise da composição fenólica</i> .....	47
7.5.1. Determinação dos compostos fenólicos totais .....	47
7.5.2. Determinação do teor em Orto-difenóis .....	48
7.5.3. Determinação do teor em Flavonóides .....	49
7.6. <i>Determinação da atividade antioxidante</i> .....	50
7.6.1. Avaliação da atividade antioxidante pelo método DPPH .....	50
7.6.2. Avaliação da atividade antioxidante pelo método ABTS.....	52
7.7. <i>Simulação in vitro das condições do trato digestivo</i> .....	54
7.8. <i>Tratamento estatístico</i> .....	55
<b>IV. RESULTADOS E DISCUSSÃO</b> .....	<b>56</b>
8. APRESENTAÇÃO E DISCUSSÃO DE RESULTADOS.....	57
8.1. <i>Caracterização Física</i> .....	57
8.1.1. Características biométricas.....	57

8.1.2. Cor .....	58
8.1.3. Textura.....	60
8.2. <i>Caracterização Química</i> .....	60
8.3. <i>Conteúdo em Compostos Fenólicos</i> .....	63
8.4. <i>Conteúdo em Orto-Difenóis</i> .....	66
8.5. <i>Conteúdo em Flavonóides</i> .....	69
8.6. <i>Atividade Antioxidante</i> .....	71
8.6.1. Atividade antioxidante pelo método DPPH .....	72
8.6.2. Atividade Antioxidante pelo método ABTS.....	75
8.7. <i>Análise global dos resultados</i> .....	77
8.8. <i>Avaliação da Bioacessibilidade</i> .....	79
8.8.1. Avaliação do teor em compostos fenólicos totais .....	79
8.8.2. Avaliação da atividade antioxidante pelo método ABTS .....	82
<b>V. CONCLUSÕES GERAIS</b> .....	<b>86</b>
9. CONCLUSÕES .....	87
<b>VI. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS</b> .....	<b>89</b>

## ÍNDICE DE FIGURAS

<b>Figura 1:</b> Planta da Physalis .....	7
<b>Figura 2:</b> Flor de physalis .....	7
<b>Figura 3:</b> Frutos em vários estágios de crescimento .....	8
<b>Figura 4:</b> Fruto da Physalis peruviana L. ....	9
<b>Figura 5:</b> Curva típica de força-distância no teste de perfuração da physalis (Puente et al., 2011).....	18
<b>Figura 6:</b> Exemplos de compostos voláteis presentes em alimentos vegetais (Rocha, 2009). ....	19
<b>Figura 7:</b> Estrutura geral de um flavonóide (Licodiedoff, 2012). ....	22
<b>Figura 8:</b> Subclasses de flavonóides (Hollman et al., 1999) .....	22
<b>Figura 9:</b> Estrutura química de ácido benzoico e de ácido cinâmico (Valdantas, 2013) .....	23
<b>Figura 10:</b> Estrutura geral dos ácidos benzóicos e cinâmicos (Gonçalves, 2007)...	24
<b>Figura 11:</b> Coordenadas no espaço de cor CIELab ( $a^*$ , $b^*$ e $L^*$ ) (Machado, 2006) .	30
<b>Figura 12:</b> Diagramas de representação do espaço de cores CIELCH: disposição tridimensional, mostrando as coordenadas $L^*$ , $C^*$ e $h^\circ$ (A) e disposição bidimensional, mostrando as coordenadas $C^*$ e $h^\circ$ (B) (Malheiros, 2007) .....	31
<b>Figura 13:</b> Análise do perfil de textura para physalis .....	33
<b>Figura 14:</b> Curva de calibração para a determinação do teor em ácido ascórbico (Ajuste por correlação linear com método dos mínimos quadrados).....	42
<b>Figura 15:</b> Esquema dos métodos realizados para a obtenção de estratos .....	46
<b>Figura 16:</b> Curva de calibração para os compostos fenólicos totais (Ajuste por correlação linear com método dos mínimos quadrados). ....	48
<b>Figura 17:</b> Curva de calibração para a determinação de orto-difenóis (Ajuste por correlação linear com método dos mínimos quadrados) .....	49
<b>Figura 18:</b> Curva de calibração para a determinação de Flavonóides (Ajuste por correlação linear com método dos mínimos quadrados) .....	50
<b>Figura 19:</b> Estabilização do radical livre DPPH (Rufino et al., 2007). ....	51
<b>Figura 20:</b> Curva de calibração para a determinação da atividade antioxidante pelo método de DPPH (Ajuste por correlação linear com método dos mínimos quadrados) .....	52

<b>Figura 21:</b> Estabilização do radical ABTS <sup>+</sup> por um antioxidante e sua formação pelo persulfato de potássio (Rufino et al., 2007) .....	53
<b>Figura 22:</b> Curva de calibração para a determinação da atividade antioxidante pelo método de ABTS (Ajuste por correlação linear com método dos mínimos quadrados) .....	54
<b>Figura 23:</b> Percentagem de compostos fenólicos extraídos nos diferentes extratos (Me – Metanol; AcMe – Acetona:Metanol; MeAg – Metanol:Água; MeAgAa – Metanol:Água:Ácido Acético).....	63
<b>Figura 24:</b> Percentagem de orto-difenóis extraídos nos diferentes extratos (Me – Metanol; MeAg – Metanol:Água) .....	67
<b>Figura 25:</b> Percentagem de flavonóides extraídos nos diferentes extratos (Me – Metanol; AcMe – Acetona:Metanol; MeAg – Metanol:Água; MeAgAa – Metanol:Água:Ácido Acético).....	69
<b>Figura 26:</b> Percentagem da atividade antioxidante determinada pelo método DPPH nos diferentes extratos (Me – Metanol; AcMe – Acetona:Metanol; MeAg – Metanol:Água; MeAgAa – Metanol:Água:Ácido Acético) .....	72
<b>Figura 27:</b> Percentagem de atividade antioxidante determinada pelo método ABTS nos diferentes extratos (Me – Metanol; AcMe – Acetona:Metanol; MeAg – Metanol:Água; MeAgAa – Metanol:Água:Ácido Acético).....	75
<b>Figura 28:</b> Relação entre a capacidade antioxidante da physalis fresca utilizando os métodos ABTS e DPPH (Ajuste por correlação linear com método dos mínimos quadrados) .....	78
<b>Figura 29:</b> Percentagem de compostos fenólicos nos diferentes extratos ao longo do trato digestivo (Me – Metanol; AcMe – Acetona: Metanol; MeAg – Metanol: Água; MeAgAa – Metanol: Água: Ácido Acético).....	80
<b>Figura 30:</b> Variação da percentagem de compostos fenólicos ao longo do trato digestivo (letras diferentes correspondem a amostras estatisticamente diferentes). 81	
<b>Figura 31:</b> Perdas globais em compostos fenólicos ao longo do trato intestinal considerando diferentes extratos (Me – Metanol; AcMe – Acetona: Metanol; MeAg – Metanol: Água; MeAgAa – Metanol: Água: Ácido Acético) (letras diferentes correspondem a amostras estatisticamente diferentes) .....	82

<b>Figura 32:</b> Percentagem de atividade antioxidante nos diferentes extratos ao longo do trato digestivo (Me – Metanol; AcMe – Acetona: Metanol; MeAg – Metanol: Água; MeAgAa – Metanol: Água: Ácido Acético).....	83
<b>Figura 33:</b> Variação da percentagem de atividade antioxidante ao longo do trato digestivo (letras diferentes correspondem a amostras estatisticamente diferentes).	84
<b>Figura 34:</b> Perdas globais em atividade antioxidante ao longo do trato intestinal considerando diferentes extratos (Me – Metanol; AcMe – Acetona: Metanol; MeAg – Metanol: Água; MeAgAa – Metanol: Água: Ácido Acético) (letras diferentes correspondem a amostras estatisticamente diferentes. ....	85

## ÍNDICE DE TABELAS

<b>Tabela 1:</b> Composição Nutricional da Physalis (por cada 100 g). Adaptado de Corporación Colombia Internacional (CCI), (2001).....	12
<b>Tabela 2:</b> Atributos gerais da qualidade de frutas e hortícolas. Adaptado de Ferreira (2011).....	15
<b>Tabela 3:</b> Massa de açúcar invertido Extraído de NP- 1420 de 1987 .....	37
<b>Tabela 4:</b> Massa de açúcar invertido Extraído de NP- 1420 de 1987 .....	39
<b>Tabela 5:</b> Codificação dos extratos.....	46
<b>Tabela 6:</b> Características biométricas avaliadas em physalis (valor médio±desvio padrão). .....	57
<b>Tabela 7:</b> Coordenadas cromáticas de physalis (valor médio±desvio padrão) .....	58
<b>Tabela 8:</b> Análises químicas realizadas na physalis .....	61
<b>Tabela 9:</b> Teor de compostos fenólicos em diferentes extratos (Me – Metanol; AcMe – Acetona:Metanol; MeAg – Metanol:Água; MeAgAa – Metanol:Água:Ácido Acético) .....	64
<b>Tabela 10:</b> Teor em orto-difenóis nos diferentes extratos (Me – Metanol; MeAg – Metanol:Água;) .....	67
<b>Tabela 11:</b> Teor em compostos flavonóides nos diferentes extratos (Me – Metanol; AcMe – Acetona:Metanol; MeAg – Metanol:Água; MeAgAa – Metanol:Água:Ácido Acético).....	70
<b>Tabela 12:</b> : Atividade antioxidante determinada pelo método DPPH nos diferentes extratos (Me – Metanol; AcMe – Acetona:Metanol; MeAg – Metanol:Água; MeAgAa – Metanol:Água:Ácido Acético).....	73
<b>Tabela 13:</b> Resultados médios e respetivo desvio padrão da atividade antioxidante pelo método ABTS em diferentes extratos (Me – Metanol; AcMe – Acetona:Metanol; MeAg – Metanol:Água; MeAgAa – Metanol:Água:Ácido Acético).....	76
<b>Tabela 14:</b> Coeficientes de correlação entre a atividade antioxidante e os compostos fenólicos, ácido ascórbico e carotenoides .....	79

## LISTA DE ABREVIATURAS

°C – graus Celcius

AA – Ácido ascórbico

AAo – Atividade Antioxidante

ABTS<sup>++</sup> - 2,2-azinobis-(3-ethylbenzothiazoline-6-sulfonic acid)

AcAg – Acetona:Água

AcMe – Acetona:Metanol

ADN - ácido desoxirribonucleico

ATT – Acidez total titulável

CUPRAC – Cupric ion reducing antioxidant capacity

DIP – 2,6-dicloroindofenol

DPPH<sup>\*</sup> - 2,2'-difeníl-1-picrilhidrazilo

EQ – Equivalentes de Quercitina

FRAP - Ferric Reduction Antioxidant Power

GAE – Equivalentes de Ácido Gálico

L - Litro

LDL – Low density lipoprotein

Me - Metanol

MeAg – Metanol:Água

MeAgAa – Metanol:Água:Ácido Acético

NP – Norma Portuguesa

ORAC – Oxygen-Radical Absorbancy Capacity

SST – Teor de Sólidos Solúveis Totais

TBARS – Thiobarbituric acid-reactive Substances

TE – Equivalentes de Trolox

TRAP – Trapping Antioxidant Parameter

UV – Ultra violeta



## I. INTRODUÇÃO

## 1. Enquadramento geral

O rápido crescimento da procura de physalis está associado às suas características nutracêuticas e medicinais (Luchese et al., 2015). É um fruto pequeno e redondo, apresenta uma polpa que varia de amarela até um alaranjado escuro, sendo semelhante no tamanho, na forma e na estrutura ao tomate cereja, envolto parcial ou completamente por um invólucro parecido com um balão conhecido por cálice e contem centenas de pequenas sementes (Licodiedoff, 2012).

Ramadan (2011) refere que as frutas tropicais desempenham um papel importante na nutrição visto apresentarem uma excelente base com baixo valor calórico, sendo consideradas produtos dietéticos. É um produto altamente valorizado pelo seu sabor único, textura e cor. Refere também, que estudos recentes mostram que a *Physalis peruviana* L. contém muitos compostos benéficos para a saúde, devido ao seu alto teor em compostos antioxidantes, vitaminas, minerais e fibras. Os alimentos funcionais representam um mercado emergente de importância económica crescente.

A associação entre uma dieta rica em frutas e vegetais, a diminuição do risco de doenças cardiovasculares e certas formas de cancro é baseada em evidências epidemiológicas e, por hipótese, é devido ao elevado conteúdo de antioxidantes na dieta (García-Alonso et al., 2004; Hollman et al., 1999). A ação dos compostos antioxidantes está relacionada com a atenuação de eventos oxidativos que podem contribuir para a patofisiologia dessas doenças, sendo as frutas fontes significativas de antioxidantes (Rockenbach et al., 2008). A bioatividade da physalis pode estar correlacionada com a presença de constituintes químicos que incluem flavonóides simples ou glicosilados, carotenoides, ácido ascórbico e alcaloides. Estes são compostos que têm despertado interesse pelos seus efeitos biológicos benéficos na saúde e pela sua ação antioxidante, atuando como mecanismo de defesa contra os radicais livres (Licodiedoff, 2012).

No contexto da produção de frutas de clima temperado, as pequenas frutas ainda são pouco expressivas, mas verificam-se avanços. Os principais frutos representantes desse grupo são o morango, a framboesa, a amora-preta e o mirtilo (Moura, 2013).

Inserida mais recentemente no ranking das pequenas frutas, a physalis (*Physalis peruviana* L.) é classificada como uma fruta requintada, tendo apresentado um grande potencial para o mercado nacional e internacional, com valor elevado como fruta fresca e atraída pelo seu sabor exótico, sendo doces, levemente ácidas, e apresentando inúmeros benefícios nutricionais. As frutas podem ser consumidas ao natural ou processadas na forma de compotas, geleias, gelados, licores e molhos para saladas e carnes. São muito utilizadas também como decoração em confeitaria, aparecendo junto com o cálice que envolve a fruta, sobre tortas, bolos e bombons para festas (Moura, 2013).

Em Portugal a produção é praticamente inexistente. A principal dificuldade tem sido entrar nos mercados, iniciar o processo de exportação para mercados mais favoráveis e conseguir assegurar uma produção anual (Manso, 2012).

## **2. Objetivos**

Com a realização deste trabalho pretendeu-se avaliar as propriedades físico-químicas da physalis, bem como de compostos bioativos com potenciais benefícios para a saúde. Nesse sentido foram colhidas physalis, sendo estas avaliadas quanto às suas propriedades físicas (dimensões, peso, cor e textura) e propriedades químicas (humidade, acidez, °Brix, fibra, açúcares totais, açúcares redutores, ácido ascórbico, carotenoides, composição fenólica, teor em orto-difenóis, teor em flavonóides e atividade antioxidante (métodos DPPH e ABTS)) e a bioacessibilidade.

Este trabalho teve ainda como objetivo estabelecer correlações entre alguns dos parâmetros analisados.



### 3. *Physalis*

#### 3.1. Origem da *Physalis peruviana* L.

A *Physalis peruviana* L. é uma planta originária dos Andes (América do Sul), e, embora Legge (1974) situe a sua origem nas zonas andinas peruanas, (Novoa et al., 2006) encontra-se distribuída pelas regiões tropicais do mundo, desde a América do Sul à América do Norte (Afsah, 2015), com um pequeno número de espécies na Europa e nos países do sudoeste e centro da Ásia (Franco et al., 2007).

Embora a maioria das espécies sejam selvagens (Afsahi, 2015), nos países onde é cultivada destina-se essencialmente a um consumo de subsistência (Rockenbach et al., 2008). É na América do Sul que se encontra o maior produtor, a Colômbia, sendo o fruto comercializado pelo nome de “Uchuva” (Licodiedoff, 2012), o qual provem da palavra indígena “*ucuba*”, tendo o significado de fruta redonda (Novoa et al., 2006). A Colômbia produz 11500 toneladas destes frutos por ano, mas apenas 50% dessa produção é destinada à exportação, sendo o restante excedente utilizado para outros fins, como produtos desidratados, pelo facto de o fruto não atingir o tamanho padrão indicado para a exportação (Rodrigues et al., 2013). A Colômbia é responsável pelo abastecimento dos mercados norte-americano, latino-americano e europeu (Moura, 2013).

Esta fruta tem provocado algumas confusões na literatura, devido à diversidade de nomes comuns existentes, sendo às vezes confundida com outras espécies (Maro, 2011), devido à sua ampla distribuição pode ser também conhecida por outros nomes como “uvilla” no Equador, “teparee” e “makowi” na Índia, “chuchuva” na Venezuela, “aguaimanto” no Peru, (Novoa et al., 2006) “goldenberry” ou “Cape gooseberries” nos países de língua inglesa (Ramadan, 2011; Puente et al., 2011), “camapum” e “joá-de-capote” no Brasil, (Muniz et al., 2011) “hosuki” no Japão e “kuzhi” na China (Licodiedoff, 2012). Em Portugal esta planta é conhecida como *physalis*.

O nome *Physalis* tem origem no grego “*Physa*” que significa bolha ou bexiga, referindo-se ao cálice que os frutos têm (Licodiedoff, 2012). A *physalis* pertence ao grupo de frutos tropicais, desfrutando de um alto destaque (Lima et al., 2009), sendo

classificada como uma fruta requintada, com elevado potencial económico (Rodrigues et al., 2013). É consumida essencialmente por grupos de elite e tendo uma distribuição exclusiva em hotéis, restaurantes e mercados especializados (Lima et al., 2009), sendo que várias espécies do género *Physalis* têm uma importância considerável, refletindo a sua importância nas ciências básicas, como a Botânica, a Química, a Farmacologia, a Toxicologia e a Genética (Afsah, 2015).

### 3.2. Aspetos botânicos

O género *Physalis* é uma fruta tropical (Rockenbach et al., 2008), que pertence à família *Solanaceae* (Tomassin et al., 2000), inclui cerca de 120 espécies distribuídas principalmente na América do Sul e do Norte (Lan et al., 2009), sendo as principais a *Physalis angulata* L., a *Physalis pubescens* L., a *Physalis alkekengi* L. e a *Physalis peruviana* L. (Luchese et al., 2015). A *Physalis peruviana* L. é a espécie economicamente mais importante (Moura, 2013).

Algumas das espécies do género *Physalis* são tratadas como infestantes e hospedeiras de doenças (Peixoto et al., 2010).

A *physalis* apresenta uma produção com características bianuais (Manso, 2012) podendo ser colhida durante todo o ano. Em regiões onde podem ocorrer geadas, estas podem provocar a morte da planta, tornando-se assim numa cultura de características anuais, fazendo com que se tenha uma produção sazonal (Muniz, s.d.). Com um manuseamento adequado e planeado, a cultura pode permanecer em produção até dois anos, consoante a região e o clima predominante. No entanto, a partir do segundo ano, existe uma redução da produtividade como também da qualidade dos frutos (Muniz et al., 2011).

A *Physalis* desenvolve-se numa ampla gama de condições edafoclimáticas sendo classificada como uma espécie muito tolerante, pela sua adaptabilidade a climas do mediterrâneo (Muniz et al., 2012) e cresce em diferentes tipos de solo (Luchese et al., 2015) com profundidades de terra areável não inferiores a 50 cm com textura franco arenosa, tendo um intervalo de pH de 5,5 a 6,8 (Manso, 2012) e baixos requisitos de fertilização (Luchese et al., 2015).

A planta (Figura 1) é considerada arbustiva e rústica, com ramificação muito densa, cujos ramos são decumbentes, necessitando assim de um sistema de

suporte (Lima et al., 2010), podendo atingir dois metros de altura. As folhas são aveludadas e triangulares, enquanto o talo principal, herbáceo e piloso, apresenta 8 a 12 nós (Lima et al., 2009). As flores (Figura 2) têm forma de sino (Ramadan, 2011) são solitárias, pedunculadas e hermafroditas, apresentando um cálice verde e a corola tubular curta, com coloração variável de acordo com a espécie, podendo ser amarela, amarela com o centro castanho, branca ou arroxeadada. A floração ocorre durante todo o período de frutificação, visto serem encontrados frutos em vários estágios de crescimento na mesma planta (Figura 3) (Moura, 2013). O intervalo ótimo de temperatura para o seu desenvolvimento situa-se entre os 18 e 25 graus (Manso, 2012).



**Figura 1:** Planta da Physalis



**Figura 2:** Flor de physalis



**Figura 3:** Frutos em vários estágios de crescimento

O fruto (Figura 4) é composto por uma baga polposa (Licodiedoff, 2012), contendo inúmeras e pequenas sementes (Carrasco et al., 2008) que germinam com facilidade (Moura, 2013), e ostenta um formato redondo (Licodiedoff, 2012), sendo semelhante a pequenos tomates (Moura, 2013). O fruto apresenta uma coloração amarelo-alaranjado quando maduro, exibe um diâmetro que varia entre os 1,2 e os 2,5 cm e um peso que varia entre os 4 e os 10 g. A fruta é protegida por cinco pétalas no formato de um cálice (Licodiedoff, 2012), que cobre completamente o fruto durante o seu desenvolvimento e amadurecimento (Luchese et al., 2015), e que serve de barreira contra os insetos, pássaros, condições climáticas severas (Licodiedoff, 2012) e doenças (Puente et al., 2011). Esta capa permite prolongar a vida pós-colheita dos frutos e é considerada um indicador na determinação da data da colheita. O tempo de vida útil dos frutos com cálice é cerca um mês, enquanto sem cálice é de mais ou menos 4 a 5 dias (Puente et al., 2011). Cada planta produz aproximadamente 2 kg de fruto por colheita (Lima et al., 2009). Uma única planta pode produzir até 300 frutos e plantas bem cuidadas podem fornecer 20-33 toneladas por hectare (Ramadan, 2011).



**Figura 4:** Fruto da *Physalis peruviana* L.

A *Physalis peruviana* L. é conhecida há séculos, mas o seu potencial para o cultivo intensivo só começou a ser explorado recentemente, principalmente devido à presença de compostos bioativos, como o ácido ascórbico, compostos fenólicos, fitosteróis e carotenóides (Luchese et al., 2015).

### **3.3. Controlo das plantações**

Estudos efetuados com várias espécies do género *Physalis* têm uma importância considerável, refletindo a sua importância para as ciências básicas, tais como, a botânica, a química, a farmacologia, a toxicologia e a genética (Lopes et al., 2006) mas, no entanto, os estudos sobre pragas de insetos associados a estas plantas são incipientes. O conhecimento e identificação de espécies que possam causar danos à cultura de *physalis* são importantes para definir métodos eficientes de controlo, uma vez que as plantas de *physalis* podem estar a agir como um refúgio para pragas de insetos durante o período de entre colheita (Afsah, 2015).

A adição de enxofre desempenha um papel importante no metabolismo da planta e fortalece o solo causando uma redução do pH do mesmo, e conseqüentemente, melhorando a solubilidade e disponibilidade de muitos elementos e nutrientes essenciais ao desenvolvimento saudável da planta. Alguns investigadores descobriram que a adição de enxofre aos vegetais melhora o seu crescimento e os seus rendimentos (Afsah, 2015).

O uso generalizado de compostos sintéticos contra pragas tem um efeito tóxico sobre outros organismos não-alvo, em ambos os níveis tróficos inferiores e

superiores. Os consumidores de todo o mundo atualmente estão cada vez mais preocupados e exigem insistentemente produtos agrícolas cultivados com poucos ou nenhuns produtos químicos. Muitos agricultores estão conscientes dos perigos de produtos químicos excessivos, estando a tentar substituir os produtos químicos por agrotóxicos seguros ou orgânicos. A physalis, enquanto fruto consumido essencialmente no seu estado fresco, deve ser alvo de cuidados particulares, e por isso tenta-se de uma forma sustentável proteger a planta de *Physalis* contra as principais pragas usando alguns produtos seguros como Solfan, KZ oil e Achook (Afsah, 2015).

### **3.4. Qualidade pós-colheita da physalis**

No período pós-colheita e durante o estágio de maturação, as frutas podem sofrer alterações na sua composição química que levam ao desenvolvimento de características que tornam o fruto adequado para o consumo. A mudança das características iniciais de maturação é devido à síntese de pigmentos (carotenoides), o que envolve modificações na cor, verificando-se também alterações no sabor e aroma pela síntese de açúcares e redução na acidez, e finalmente mudanças na textura (Moraes, 2013).

Quando o crescimento do fruto cessa, as trocas químicas relativas ao amadurecimento são substituídas pelos processos de envelhecimento, iniciando-se o processo de senescência das bagas. As transformações neste período tendem para as degradações, tornando o produto inadequado para o consumo (Moraes, 2013).

A physalis apresenta um elevado conteúdo em água, estando esta sujeita às variações de temperatura e humidade relativa do ambiente onde se encontra, pode levar a uma perda de água, com conseqüente perda de massa e alteração na aparência do fruto (Chiumarelli et al., 2006).

O armazenamento tem uma grande influência na qualidade final dos frutos, afetando a sua aparência e induzindo a mudança de cor. O manuseamento inadequado dos frutos causa hematomas que levam a alterações enzimáticas que resultam no escurecimento dos tecidos, sendo a aparência externa do fruto usada como um indicador de maturação (Ferreira, 2011).

A *physalis* apresenta alguns problemas de armazenamento e transporte devido à sua alta perecibilidade, o que influencia na sua vida útil, afetando o mercado de exportação da fruta. Desta forma, para retardar as alterações que ocorrem durante o processo de maturação e senescência é indispensável a aplicação de técnicas de conservação durante o período pós-colheita, que possam garantir a qualidade do produto e prolongar sua vida de prateleira (Moraes, 2013).

### **3.5. Importância nutricional da *physalis***

Nos últimos tempos, o interesse pelo consumo de pequenos frutos tem aumentado, em resultado das descobertas de elevadas quantidades de compostos fenólicos e vitaminas, com propriedades antioxidantes, que podem ajudar a prevenir doenças (Moura, 2013).

É provável que a *physalis* apresente características nutricionais semelhantes aos pequenos frutos em geral. Sabe-se que possui altos teores em vitamina A e B e ácido ascórbico, ainda contém micronutrientes como o ferro e o zinco, contendo também macronutrientes como o fósforo e pequenas quantidades de cálcio, compostos estes que são necessários para o funcionamento normal do organismo (Moura, 2013).

Os benefícios associados à *physalis* são principalmente devido à sua composição nutricional (Tabela 1). Porém, além de apresentar boas características nutricionais contém também componentes biologicamente ativos que fornecem benefícios para a saúde e reduzem o risco de certas doenças (Puentes et al., 2011).

**Tabela 1:** Composição Nutricional da Physalis (por cada 100 g). Adaptado de Corporación Colombia Internacional (CCI), (2001)

Constituição Nutricional	Conteúdo
Calorias	49,0
Água	85,9 g
Proteína	1,5 g
Gordura	0,5 g
Hidratos de Carbono	11,0g
Fibra	0,4 g
Cinza	0,7 g
Cálcio	9,0 mg
Fósforo	21 mg
Ferro	1,7 mg
Vitamina A	1730 U.I.
Tiamina	0,1 mg
Riboflavina	0,17 mg
Niacina	0,8 mg
Ácido Ascórbico	20 mg

### 3.6. Usos e propriedades medicinais

Os alimentos funcionais representam um mercado emergente com uma importância económica crescente. Existem mercados internacionais para muitas frutas tropicais e, recentemente, o processamento de frutas tropicais começou em muitos países. Estudos efetuados indicam que a physalis pode tornar-se uma fruta de particular interesse para a indústria alimentar (Ramadan, 2011).

A physalis é uma candidata com potencial para o processamento de novos alimentos funcionais devido às suas propriedades nutricionais, bem como aos seus componentes biologicamente ativos, em particular, a polpa do fruto contém elevados níveis de compostos fenólicos, carotenoides, vitamina E e ácido ascórbico (Vega-Gálvez et al., 2014).

Geralmente, a physalis é consumida em fresco, proporciona um equilíbrio doce-ácido de saladas de frutas e vegetais (Puente et al., 2011). Em alternativa pode ser utilizada na culinária em compotas e geleias. Atualmente existem diferentes produtos transformados, como por exemplo compotas ou passas e doces com cobertura de chocolate. A physalis também pode ser processada para sumos, bagaço e outros produtos adoçados com açúcar. Nos mercados europeus, é

utilizada como ornamento em refeições, saladas, sobremesas e bolos (Puentes et al., 2011), aperitivos naturais e em conservas (Rockenbach et al., 2008).

O sumo da *physalis* madura é rico em pectinases, reduzindo assim os custos na preparação de compotas e outros preparados similares (Puentes et al., 2011).

O uso das plantas da *physalis* como plantas medicinais ou pelos seus componentes ativos representa uma alternativa cada vez mais explorada e promissora para o tratamento de inúmeras doenças inflamatórias, no entanto, a limitada evidência científica sobre a eficácia destes produtos naturais juntamente com a falta de compreensão dos mecanismos de ação envolvidos, pode ser uma das limitações à sua incorporação na prática clínica (Franco et al., 2007).

São muitas as propriedades medicinais atribuídas à *physalis* tais como antiespasmódico, diurético, antissético, sedativo, analgésico, ajudando a fortalecer o nervo ótico, aliviando problemas da garganta e eliminando parasitas intestinais e a ameba. Foram também relatadas propriedades antidiabéticas, recomendando-se para tal o consumo de cinco frutos por dia. Até ao momento, não existem estudos que indiquem possíveis efeitos adversos. Em diferentes regiões da Colômbia, algumas das suas propriedades medicinais são usadas na medicina tradicional para purificar o sangue dos rins, diminuir a albumina, eliminar as cataratas, calcificar e controlar amebíase (Puentes et al., 2011). Na medicina tradicional o fruto é usado empiricamente para tratar o cancro e outras doenças, como hepatite, asma, dermatite, malária (Puentes et al., 2011), reumatismo (Rockenbach et al., 2008), ou utilizado como imunomodulador (Wu et al., 2005) mas, no entanto, as suas propriedades não foram cientificamente comprovadas (Puentes et al., 2011). Contudo, os extratos das folhas desta planta demonstram uma importante atividade antibiótica, antioxidante e anti-inflamatória (Franco et al., 2007).

Os cálices são amplamente utilizados na medicina popular pelas suas propriedades anticancerígenas, antimicrobianas, antipiréticas, diuréticas, imunomoduladoras e anti-inflamatórias (Puentes et al., 2011).

### **3.7. Produção em Portugal**

A produção de physalis em Portugal é praticamente inexistente e o seu mercado está ainda a um nível muito primitivo. No entanto existem projetos de investigação e produção cujos resultados preliminares têm sido promissores sendo que ainda existe muito por fazer. A principal dificuldade tem sido entrar nos mercados, conseguindo assim assegurar uma produção anual e iniciar o processo de exportação para mercados mais favoráveis, sendo que para isso é necessário aumentar a área de forma a garantir bons volumes de produção (Manso, 2012).

Assim, pode-se juntar mais um fruto à fileira de pequenos frutos produzidos em Portugal, visto o nosso clima assim o permitir e a sua procura ser elevada no mercado europeu (Manso, 2012).

Em 2011, no final do ano produtivo, chegou-se a um valor próximo de uma tonelada de physalis, na qual 80% se destinou à comercialização “*in natura*”. Os restantes 20% destinaram-se à realização de ensaios em derivados, nomeadamente licor, aguardente, compota, fruta desidratada e em calda (Manso, 2012).

## **4. Aspetos da qualidade**

A qualidade pode ser definida como um conjunto de características que diferenciam os componentes individuais de um mesmo produto e que tem significância na determinação do grau de aceitação desse mesmo produto por parte do consumidor. Devem ser considerados os atributos físicos, sensoriais e a composição química, bem como as associações ou relações entre as medições objetivas ou subjetivas, para um melhor entendimento das transformações que ocorrem ao longo do tempo, e que podem ou não afetar a qualidade do produto (Moraes, 2013).

As características físicas e químicas dos frutos são de grande importância para o seu manuseamento e comercialização, sendo a aparência externa dos frutos, o tamanho, a consistência, a espessura, a forma e a coloração da casca fatores importantes para a aceitabilidade pelos consumidores (Oliveira et al., 2011).

Os fatores e atributos da qualidade (Tabela 2) dependem do produto em questão e da sua utilização final (em fresco ou processado) (Ferreira, 2011).

**Tabela 2:** Atributos gerais da qualidade de frutas e hortícolas. Adaptado de Ferreira (2011)

Fator principal	Atributos
Aparência (visão)	Tamanho como as dimensões, o peso, e o volume; Forma; Cor como a intensidade, a uniformidade e o brilho. Defeitos externos e internos (morfológicos, físicos e mecânicos, fisiológicos, patogênicos e entomológicos)
Textura	Firmeza, dureza, moleza; Estaladiço, crocante. Suculência, sumarento; Fibrosidade.
Flavor (gosto e olfato)	Doçura, acidez, amargura, adstringência. Odor.
Valor nutricional	Hidratos de carbono (incluindo a fibra); Proteínas; Lípidos; Vitaminas; Minerais.
Segurança	Toxinas naturais; Contaminantes (resíduos químicos, metais pesados). Microtoxinas. Contaminação microbiológica.

Os atributos da qualidade podem ser considerados essenciais para um determinado grupo de consumidores e não para outro, dependendo da sua preferência, nacionalidade, idade, sexo, hábitos alimentares, entre outros (Ferreira, 2011). De uma forma geral, os parâmetros da qualidade dos alimentos são de grande importância, uma vez que o seu valor comercial é determinado pelo conjunto das suas características físico-químicas (Moura, 2013).

A textura, a aparência, o valor nutritivo (Moura, 2013), a cor, o aroma e a composição química (Ferreira, 2011) são atributos importantes na qualidade das frutas (Moura, 2013).

A aparência é um dos principais atributos de qualidade, pois é a primeira impressão que o consumidor tem de um dado alimento. É um termo abrangente que envolve o tamanho, a forma, a textura, a massa, o brilho, a cor entre outros (Malheiros, 2007).

A cor é de elevada importância para a aceitação do produto por parte do consumidor, seguindo-se a firmeza e o sabor (Guedes et al., 2013). A firmeza, confere a textura à fruta, e é uma característica importante por estar associada à qualidade culinária, frescura e longa vida de prateleira do fruto (Moura, 2013). Os

atributos da qualidade podem ser, em grande parte influenciados pela disponibilidade de nutrientes, que juntamente com as fontes de substâncias biologicamente ativas, vitaminas e metabolitos secundários, são necessárias para garantir uma nutrição completa (Guedes et al., 2013).

#### **4.1. Cor**

O mundo ao redor das pessoas é percebido pelos sentidos (Harder, 2005). A luz e a cor existem, como componentes do mundo de sensações dos seres vivos. (Hedman et al., 1989). Dos 5 sentidos existentes, a visão é o mais marcante, sendo definido não apenas pela forma e aspeto dos objetos, mas também pela cor, que na maioria das vezes, é o primeiro critério utilizado na aceitação ou rejeição de um alimento. Por isso na indústria alimentar a cor é um atributo importante (Harder, 2005).

As cores dos tecidos vegetais são decorrentes da presença de pigmentos localizados nos plastos, vacúolos e líquidos citoplasmáticos das células, localizadas apenas nas células epidérmicas (Moraes, 2013). Nos pigmentos naturais dos frutos e vegetais, incluem-se os corantes lipossolúveis como as clorofilas (verde), carotenóides (amarelo, laranja e vermelho), os corantes hidrossolúveis tais como as antocianinas (vermelho, azul) e os flavonóides (amarelo) (Ferreira, 2011).

A cor, como um aspeto de aparência (Malheiros, 2007), está diretamente correlacionada com a aceitação de um alimento, sendo um componente fundamental de qualidade, embora altamente subjetivo, induzindo aos apelos de sabor, aroma e textura do alimento (Harder, 2005). Se a cor é inaceitável, outros aspetos sensoriais, como o sabor e textura, provavelmente nem chegarão a ser julgados (Malheiros, 2007), enquanto se a cor for atraente, dificilmente o alimento não será ingerido ou, pelo menos provado pelo consumidor (Harder et al., 2007).

As mudanças da cor ocorrem durante a maturação de muitos frutos, e constituem um dos critérios mais importantes utilizado pelo consumidor para verificar a maturação dos frutos. A mudança mais comum consiste no desaparecimento da cor verde, seguido do aparecimento de várias cores que variam do amarelo ao vermelho (Moraes, 2013). Estas mudanças na *physalis* estão associadas à presença de carotenoides.

Estudos têm mostrado que a cor do produto afeta a percepção de outros atributos, como o aroma, o gosto e o sabor. A cor há muito tempo que tem sido utilizada como um indicador dos processos dinâmicos que ocorrem num produto, sendo também um parâmetro utilizado para a qualidade de um alimento (Malheiros, 2007).

## 4.2. Textura

A textura pode ser definida como um grupo de características físicas que surge dos elementos estruturais dos alimentos, sendo um dos atributos mais importantes na qualidade dos frutos e vegetais. A textura é percebida pelo sentido do tato e relacionada com a deformação, desintegração e fluxo do alimento submetido a uma determinada força e pode ser medida em função da massa, tempo e distância (Moraes, 2013).

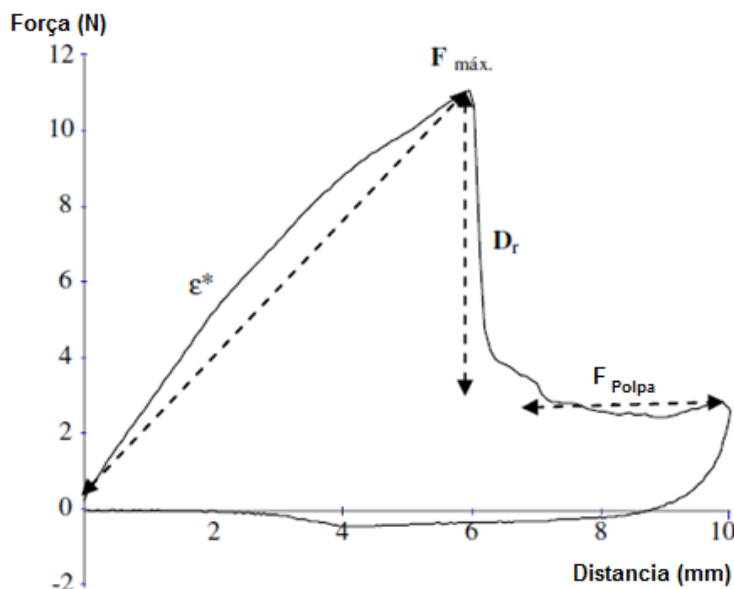
A firmeza é a resistência de um material à deformação ou penetração, onde cada material é caracterizado por uma curva de deformação (Figura 5) em resposta a vários níveis de força ou pressão (Puente et al., 2011). A firmeza influencia a vida de prateleira dos frutos ou vegetais, podendo as frutas serem facilmente danificadas no seu manuseamento (Antunes, 2002).

Os testes instrumentais em que se aplica uma força são o melhor índice no plano prático para a determinação da maturação de um fruto em diferentes fases, permitindo estabelecer os níveis ideais de consumo, transporte e manuseamento de produtos e, adicionalmente, constituem um bom indicador da sua vida útil e grau de amadurecimento do alimento (Puente et al., 2011).

Os parâmetros avaliados por diferentes autores neste tipo de teste (Figura 5) são: a força máxima ( $F_{m\acute{a}x}$ ), distância de quebra ( $D_r$ ), inclinação ( $\epsilon^*$ ) e força média da polpa ( $F_{polpa}$ ). A evolução da força com a distância de penetração identifica o ponto de rutura da película de superfície, que corresponde à força máxima ou força de rotura e a distância da quebra (Puente et al., 2011).

Estudos realizados por Botero (2008) para a avaliação da resistência à perfuração de bagas de *physalis* (Figura 5) mostram uma curva típica da força-distância, onde se pode observar o ponto máximo de força de rutura ( $F_{m\acute{a}x.}$ ) do fruto a uma determinada distância ( $D_r$ ). Até esse ponto ocorre uma relação crescente

linear do esforço frente à deformação relacionada à resistência à pele do fruto. Após a ruptura dessa força, é praticamente constante a deformação da polpa, conforme também observado por Licodiedoff (2012).



**Figura 5:** Curva típica de força-distância no teste de perfuração da physalis (Puente et al., 2011)

### 4.3. Aroma

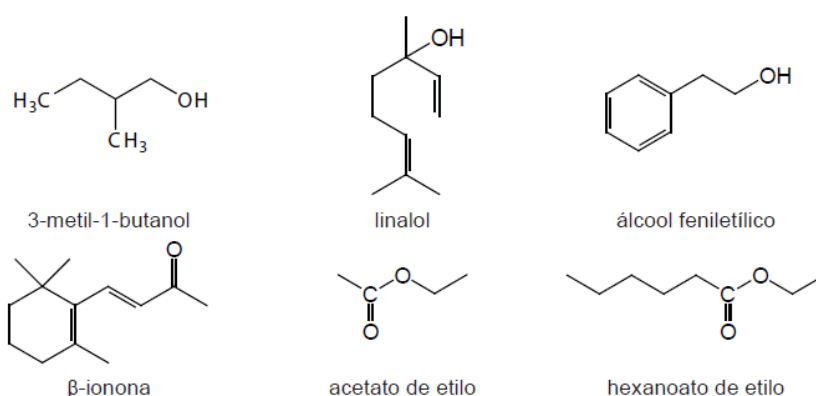
O aroma é uma mistura complexa de compostos voláteis que podem ser identificados e quantificados pelo uso de diferentes técnicas (Simões et al., 2009). O aroma é um dos principais atributos dos alimentos que determinam a sua seleção e o seu consumo (Ferreira, 2011).

Vários compostos químicos estão envolvidos na determinação do sabor e aroma, tais como ácidos orgânicos (principalmente ácido cítrico), açúcares redutores, aminoácidos livres e compostos voláteis (Moretti et al., 2000).

Sendo os alimentos de origem vegetal, têm na sua composição compostos orgânicos voláteis, que possuem uma elevada pressão de vapor à pressão atmosférica, podem facilmente volatilizar e passar para a atmosfera na forma gasosa. Entre estes compostos voláteis encontra-se uma grande variedade de estruturas químicas, tais como álcoois, ácidos, aldeídos, cetonas e ésteres alifáticos

e aromáticos, entre outros (Figura 6) (Rocha, 2009). Estes compostos podem existir na forma livre e volátil, podendo assim contribuir para o aroma dos produtos (Rocha, 2009). Os compostos voláteis quando presentes sob a forma glicosiliada não contribuem para as propriedades do aroma (Ferreira, 2011).

Os compostos voláteis são componentes minoritários nos vegetais, podendo estar presentes em concentrações muito baixas (ng a mg por kg) (Rocha, 2009).



**Figura 6:** Exemplos de compostos voláteis presentes em alimentos vegetais (Rocha, 2009).

## 5. Compostos Bioativos

Numa sociedade em que a preocupação com a saúde assume cada vez mais uma importância maior, torna-se essencial o desenvolvimento de produtos ricos em compostos que apresentam capacidade de prevenir o aparecimento de certas doenças como o cancro e doenças cardiovasculares. Estes compostos, são designados geralmente como sendo compostos bioativos ou fitoquímicos, e encontram-se amplamente presentes em produtos vegetais, nomeadamente em frutos, na forma de compostos fenólicos, ácido ascórbico, carotenoides, tocoferóis, compostos nitrogenados, entre outros (Balbi, 2009).

Evidências crescentes sugerem que determinados compostos bioativos são constituintes não nutritivos pertencentes aos produtos vegetais que promovem a saúde, reduzem o risco de doenças crónicas e são benéficos quando ingeridos (Gray et al., 2007).

Os compostos bioativos são também inibidores da ação de radicais livres e a oxidação das LDL (low density lipoprotein), funcionando como agentes

bloqueadores, supressores e indutores da reparação do ADN no processo de carcinogénese e contribuem para a vasodilatação, para a diminuição da agregação de plaquetas e processo inflamatório (Balbi, 2009). Nas plantas estes compostos têm várias funções, tais como atrair insetos polinizadores, proteger de doenças, serem ingeridas por animais herbívoros e proteger da luz UV (Balbi, 2009).

O ácido ascórbico é um nutriente essencial para a biossíntese de colagénio e certas hormonas. A ingestão deste composto tem sido relacionada com redução do risco de cancro e doenças cardiovasculares. Por outro lado, tem sido relatado que dietas ricas em compostos fenólicos correlacionam-se com a diminuição de doenças neurodegenerativas e alguns tipos de cancro. Além disso, os dois tipos de compostos bioativos são bons contribuintes para a atividade antioxidante dos alimentos (Rodríguez-Roque et al., 2015).

## 5.1. Compostos fenólicos

Os compostos fenólicos são metabolitos secundários, presentes nos alimentos vegetais, que se dividem em flavonóides e não flavonóides (Balbi, 2009).

Os compostos fenólicos são definidos como substâncias que possuem um anel aromático com um ou mais substituintes hidroxílicos, incluindo os seus grupos funcionais (Malacrida et al., 2005). Estão amplamente distribuídos no reino vegetal, englobando desde moléculas simples até outras com alto grau de polimerização (Rocha et al., 2011).

Os compostos fenólicos podem ser divididos em flavonoides (também classificados como fenóis simples) e não-flavonoides (também designados de complexos). Do primeiro grupo fazem parte os flavanóis (catequina, epicatequina e epigalocatequina, caempferol, quercetina e miricetina), flavonóis (caempferol, quercetina e miricetina) e antocianinas, e ao segundo grupo pertencem os ácidos fenólicos, hidroxibenzóicos e hidroxicinâmicos (Abe et al., 2007). O grupo dos flavonoides engloba as flavonas, flavonois, flavononas, flavonóis, antocianidinas e isoflavonas (Licodiedoff, 2012).

Nos alimentos, estes compostos podem influenciar o valor nutricional e a qualidade sensorial, conferindo atributos como cor, textura, amargura e

adstringência. Na maioria dos vegetais, os compostos fenólicos constituem os antioxidantes mais abundantes (Rocha et al., 2011).

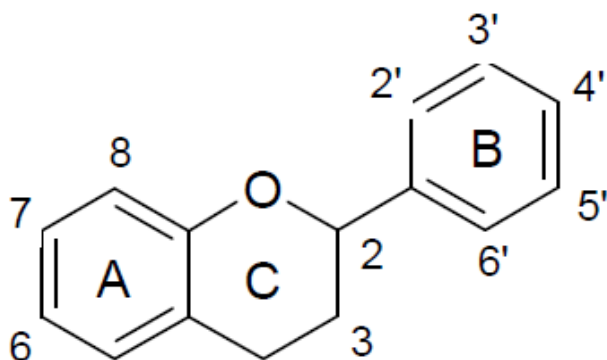
Os compostos fenólicos também são potentes antioxidantes, podendo agir como redutores de oxigênio singlete, atuando assim nas reações de oxidação lipídica, assim como na quilatação de metais (Duarte-Almeida et al., 2006), e podendo ainda estes participar em processos de proteção, regeneração e degradação causada por poluentes (Giertych et al., 1999)

### 5.1.1. Flavonóides

Existem mais de 4000 estruturas de flavonóides que já foram identificadas, e ao serem consumidos apresentam efeitos benéficos para o organismo. O termo flavonóide é relatado de forma a abranger o grupo dos compostos fenólicos presentes nas plantas, que contribui para a qualidade sensorial dos frutos o que inclui também a adstringência e o amargor (Licodiedoff, 2012).

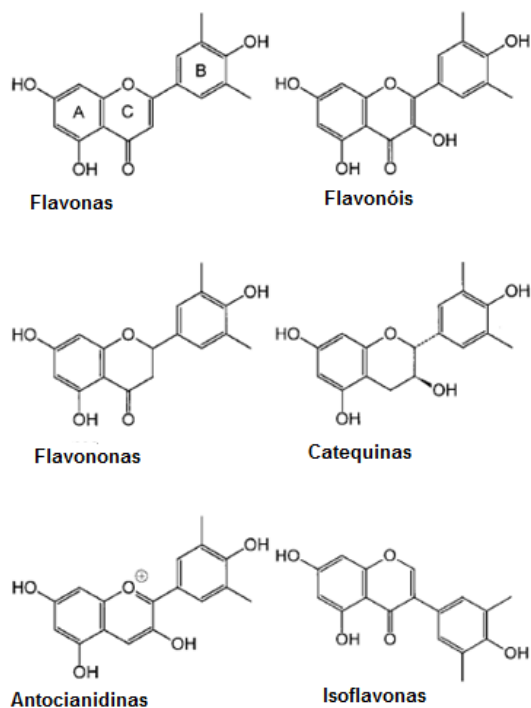
Os flavonóides constituem um grupo de componentes fenólicos originados a partir de diferentes espécies de plantas, encontrando-se presentes numa grande variedade de frutas, hortaliças, cereais, chá e sumos de frutas (Santos et al., 2015).

A estrutura química dos flavonóides caracteriza-se como difenilpropanos (C<sub>6</sub>-C<sub>3</sub>-C<sub>6</sub>) com 15 átomos de carbono arranjados em dois anéis benzénicos (A e B) ligados a um anel pireno (C) (Figura 7), divididos em classes de acordo com as suas propriedades químicas (Licodiedoff, 2012).



**Figura 7:** Estrutura geral de um flavonóide (Licodiedoff, 2012).

A partir dessa estrutura, podem ser formadas diversas combinações, principalmente com a presença de hidroxilos e metoxilos. Entre os flavonóides, incluem-se as principais classificações: flavonas, flavonóis, flavononas, catequinas, antocianidinas, proantocianidinas e isoflavonas (Figura 8) (Licodiedoff, 2012).



**Figura 8:** Subclasses de flavonóides (Hollman et al., 1999)

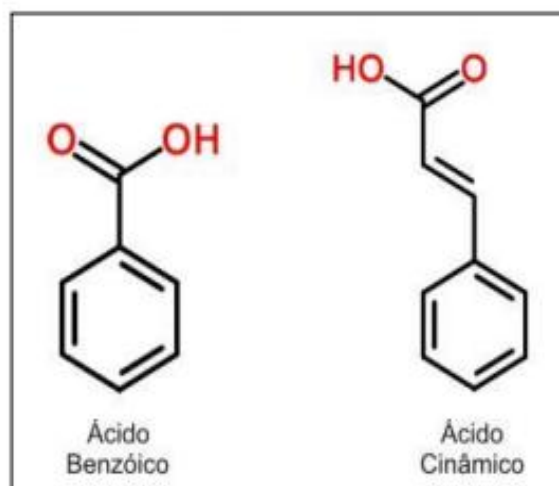
Os flavonóides são importantes para a saúde devido à sua elevada capacidade farmacológica em captar radicais livres, devido à sua elevada

capacidade antioxidante (Yao et al., 2004). Estudos recentes atribuem um largo espectro de atividades biológicas aos flavonóides como sejam efeito anti-inflamatório, antimicrobiano, anticancerígeno e propriedades anti-aterogénicas, o que pode explicar o seu potencial papel na prevenção contra a aterosclerose e contra o cancro (Molina-Calle et al., 2015), atividades anti-inflamatórias, efeitos sobre a fragilidade capilar, e capacidade para inibir a agregação de plaquetas humanas (Benavente-Garcia et al., 1997).

Os flavonóides representam uma classe de compostos fenólicos com potenciais benefícios nutracêuticos devido à sua atividade antioxidante (Molina-Calle et al., 2015).

### 5.1.2. Não-Flavonóides

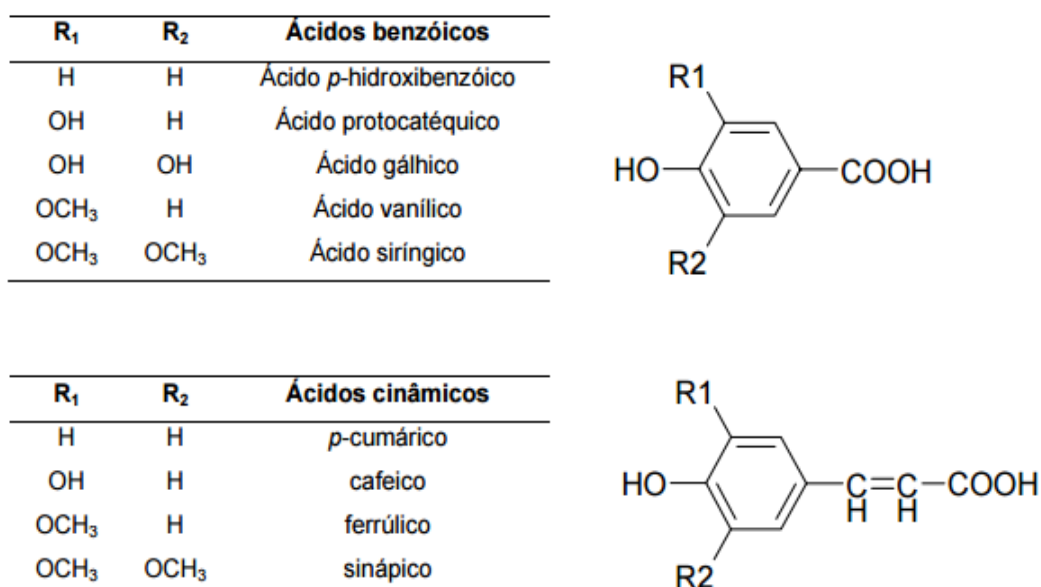
Os compostos não flavonóides compreendem os ácidos fenólicos, ácidos benzoicos e ácidos cinâmicos (Figura 9), e outros derivados fenólicos como os estilbenos e isoflavonas (Valdantas, 2013).



**Figura 9:** Estrutura química de ácido benzoico e de ácido cinâmico (Valdantas, 2013)

Os ácidos benzoicos e cinâmicos (Figura 10), frequentemente denominados ácidos fenólicos, encontram-se nos frutos na forma livre em baixas concentrações

quando comparados com as suas formas conjugadas. (Soutinho, 2012) Estes compostos surgem a maior parte das vezes nos produtos vegetais (Alves, 2015) desde películas de uvas a cereais (Gonçalves, 2007), sobretudo sobre a forma de ésteres com ácido tartárico ou ligados a açúcares (Alves, 2015).



**Figura 10:** Estrutura geral dos ácidos benzóicos e cinâmicos (Gonçalves, 2007)

## 5.2. Atividade antioxidante

O processo respiratório e diversas reações oxidativas, que ocorrem nas células aeróbicas, levam à formação de radicais livres, que podem causar danos ao organismo e contribuindo assim para o aparecimento de muitas doenças, tais como: inflamações, tumores malignos, Alzheimer e doenças cardiovasculares, bem como aceleram o processo de envelhecimento. Por esse motivo, as células humanas dependem de certa capacidade antioxidante para fornecer proteção contra os efeitos prejudiciais de radicais livres e espécies reativas do oxigênio, que são consequências inevitáveis da vida aeróbica. Para alcançar uma proteção eficiente, os tecidos dispõem de um sistema antioxidante integrado, que consiste num arranjo de diversos componentes lipossolúveis como a vitamina E e os carotenoides,

hidrossolúveis como o ácido ascórbico e a glutatinoxidase e enzimáticos como a glutatinoxidase, a peroxidase, o superóxido, a dismutase e a catalase (Silva et al., 2010).

Entende-se por antioxidantes, as substâncias que presentes em concentrações baixas, comparadas ao substrato oxidável, retardam significativamente ou inibem a oxidação do substrato (Nascimento et al., 2011), sendo as frutas fontes significativas de compostos antioxidantes (Rockenbach et al., 2008).

Os antioxidantes são substâncias que protegem o sistema biológico contra o efeito nocivo de processos ou reações que podem causar oxidação excessiva (Rufino et al., 2007) e que retardam a velocidade da oxidação, através de um ou mais mecanismos, tais como inibição de radicais livres e complexação de metais. Estes podem ser sintéticos ou naturais e, para serem utilizados em alimentos, devem ser seguros para a saúde, estando presentes naturalmente em frutas, sendo que algumas apresentam altas concentrações de determinados grupos, tais como o ácido ascórbico, vitamina E,  $\beta$ -caroteno e os compostos fenólicos (Duarte et al., 2006).

Na indústria alimentar, os antioxidantes são muito usados com a finalidade de inibir ou retardar a oxidação lipídica de óleos, gorduras e alimentos gordurosos, sendo por isso os seus principais mecanismos de ação muito estudados (Tiveron, 2010).

Nos compostos que possuem atividade antioxidante incluem-se os compostos fenóis, tocoferóis, fosfolipídios, aminoácidos, ácido fítico, pigmentos e esteroides. Os compostos fenólicos são antioxidantes primários que agem como terminais para os radicais livres (Roesler et al., 2007).

## **6. Bioacessibilidade**

As tendências atuais em desenvolvimento de novos produtos alimentares com funcionalidade visam demonstrar uma bioatividade significativa nas frutas exóticas com impacto positivo em várias doenças crónicas (Carbonell-Capella et al., 2015). Apesar da enorme pesquisa sobre as propriedades antioxidantes das frutas, estudos que investiguem o efeito da digestão gastrointestinal em antioxidantes dietéticos são escassos (Carbonell-Capella et al., 2015).

Uma vez ingeridos, os compostos bioativos têm que ser libertados da matriz e modificados no trato gastrointestinal de modo que eles se tornem acessíveis e serem absorvidos no intestino (Heleno et al., 2015). A fração de compostos bioativos libertados da matriz a seguir à digestão de alimentos solubilizada no intestino para absorção intestinal é geralmente conhecida como a fração bioacessível (Rodríguez-Roque et al., 2015). Somente os compostos bioativos libertados a partir de matrizes se tornam bioacessíveis e estão potencialmente disponíveis para absorção pelo trato gastrointestinal, e portanto, são assim capazes de exercer os seus efeitos benéficos no corpo humano. Sob as condições gastrointestinais, ocorrem transformações (degradação, epimerização, hidrólise e oxidação) e interações entre os fitoquímicos e componentes alimentares, podendo também ocorrer modificações na atividade biológica dos compostos bioativos (Carbonell-Capella et al., 2015). Por conseguinte, é importante, antes de concluir sobre qualquer efeito potencial para a saúde, avaliar a forma como o processo de digestão afeta os compostos bioativos e a sua estabilidade, e como esta, por sua vez, afetará a sua biodisponibilidade para a absorção, bem como os seus possíveis efeitos benéficos (Carbonell-Capella et al., 2015).

A simulação de sistemas consiste na representação da essência de determinada realidade mediante a utilização de meios artificiais, com a finalidade de obter informações relativas a um determinado evento ou conjunto de eventos que, isolado ou simultaneamente, podem ocorrer dentro dos limites que caracterizam o objeto de estudo (Vieira et al., 2000). A biodisponibilidade é geralmente avaliada por procedimentos de digestão *in vitro* que têm sido desenvolvidas e que geralmente simulam a digestão para avaliar a biodisponibilidade e se os compostos são bioacessíveis. Estes ensaios são descritos como sendo fáceis, baratos e reproduzíveis, e por conseguinte, sendo possível avaliar a estabilidade digestiva dos constituintes alimentares. Além disso, em alguns casos, a utilização de modelos *in vitro* para estudar a biodisponibilidade de constituintes alimentares têm provado ser bem correlacionados com os resultados de estudos em humanos e em modelos animais (Heleno et al., 2015).

Estudos realizados por Carbonell-Capella et al., (2015) demonstram que o ácido ascórbico não é detectado após a simulação *in vitro* da digestão. Estes também referem que se deve ter em consideração as limitações das condições *in*

*vitro*, uma vez que estes métodos permitem uma aproximação, mas não prevêem absolutamente a quantidade de um composto bioativo específico que um ser humano irá absorver e utilizar.

No estudo realizado por Rodríguez-Roque et al., (2015), a bioacessibilidade da vitamina C não foi modificada por tecnologias de processamento não térmicas. Os compostos fenólicos totais foram mais bioacessíveis após os tratamentos estudados, mas a atividade antioxidante sofreu uma influência variável. Estes autores concluíram também que a matriz e o processamento dos alimentos molda a biodisponibilidade de compostos fenólicos bem como a atividade antioxidante. Sendo a simulação *in vitro* da digestão uma ferramenta útil, que permite avaliar a influência da matriz no processamento dos alimentos e na biodisponibilidade dos compostos bioativos. Segundo Heleno et al., (2015), após a simulação *in vitro* da digestão os compostos bioativos podem sofrer alterações estruturais (perdendo os grupos OH responsáveis pela atividade antioxidante) que diminui as propriedades antioxidantes. No entanto, ácidos fenólicos foram encontrados nas amostras digeridas o que significa que essas moléculas são bioacessíveis.

No estudo apresentado por Lima et al., (2016), a atividade antioxidante actua com mais eficiência em grupo do que isoladamente, o que explica a baixa percentagem encontrada nas amostras (34-36%) de atividade antioxidante e uma percentagem maior de compostos fenólicos (72 – 74%). Estes autores concluem também que o comportamento bioativo das amostras pode depender de factores tais como a matriz do alimento, pH, temperatura, presença de inibidores ou potenciadores de absorção e a presença de enzimas.



## **7. Material e Métodos**

### **7.1. Colheita das amostras**

Para este trabalho foi avaliada uma variedade de physalis (*Physalis peruviana* L.), e as bagas foram colhidas numa exploração localizada na região Norte-Centro de Portugal. As bagas foram colhidas no estado de maturação para consumo. Foram recolhidas aproximadamente 750 g de bagas, sendo selecionadas aleatoriamente a partir de várias plantas em diferentes partes do mesmo campo.

As determinações físicas, a determinação da humidade e o teor de sólidos solúveis foram efetuadas 3 dias após a colheita. Depois disso, o restante fruto foi congelado a uma temperatura de -20 °C durante 3 meses para análises posteriores. Após a conservação dos frutos congelados foram efetuadas as análises ao ácido ascórbico, aos açúcares totais e redutores, aos carotenoides e à acidez.

Metade da amostra foi liofilizada num liofilizador modelo Supporting Research UniEquip D-82152 Martinsried Freeze Dryer sendo efetuada a análise à fibra bruta, e usada também para se fazerem as extrações que posteriormente serviram para a análise aos fenóis totais, orto-difenóis, flavonóides, atividade antioxidante (DPPH e ABTS).

### **7.2. Análises físicas**

As análises físicas foram realizadas às physalis frescas, considerando os parâmetros do calibre, cor e textura. Para a determinação dos parâmetros referidos foram utilizadas 100 bagas do lote de 750 g de bagas frescas antes de congelar. Todas as determinações físicas foram feitas aos frutos após a colheita.

#### **7.2.1. Características Biométricas**

Para a avaliação das características biométricas, o tamanho de cada baga foi medido com o auxílio de um paquímetro automatizado (Mitutoyo, ABSOLUTE, AOS,

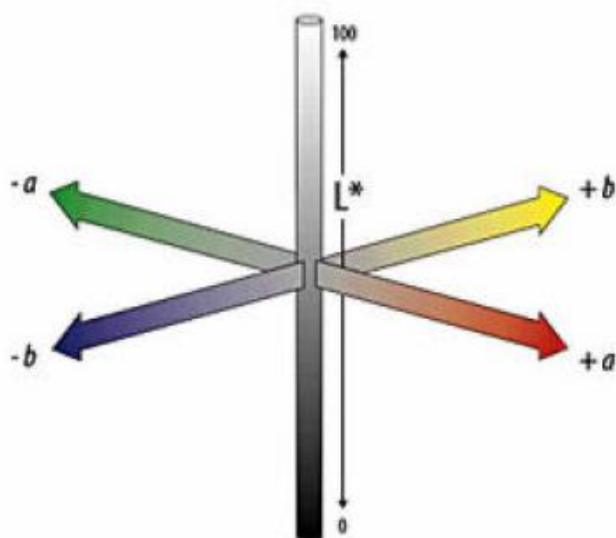
Digimatic) e o peso foi determinado por pesagem numa balança de precisão (Precisa, XT 220A, swissmade).

A área de superfície e o volume foram calculados assumindo que a baga tinha uma forma esférica e a massa específica foi calculada dividindo a massa pelo volume.

### 7.2.2. Cor

As técnicas de medição instrumental da cor costumam ser rápidas e simples, sendo utilizadas na área dos alimentos com o pressuposto de obter valores objetivos (Malheiros, 2007).

A cor de *physalis* foi determinada com um colorímetro (Chroma Meter - CR-400, Konica Minolta) previamente calibrado numa superfície branca, sendo medidas as coordenadas no espaço de cor CIELab (Figura 11). Foram, assim, avaliadas as coordenadas cartesianas  $L^*$ ,  $a^*$  e  $b^*$ . O iluminante foi D65. O valor de  $a^*$  caracteriza a coloração na região do vermelho ( $+a^*$ ) ao verde ( $-a^*$ ), o valor  $b^*$  indica a coloração no intervalo do amarelo ( $+b^*$ ) ao azul ( $-b^*$ ). O valor  $L^*$  fornece a luminosidade, variando entre o branco ( $L^*=100$ ) e o preto ( $L^*=0$ ) (Harder, 2005).



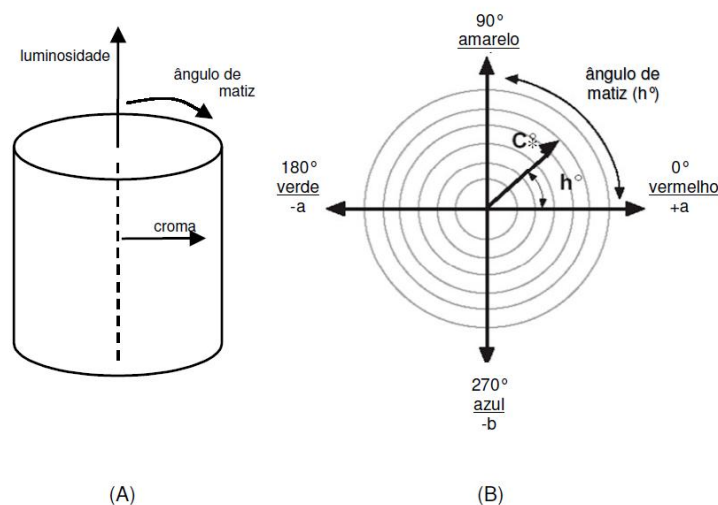
**Figura 11:** Coordenadas no espaço de cor CIELab ( $a^*$ ,  $b^*$  e  $L^*$ ) (Machado, 2006)

Apesar do CIELab ser o sistema padrão, existem outros sistemas que podem ser adotados para facilitar a comparação ou a compreensão das cores. O sistema de cor em que são utilizadas as coordenadas cilíndricas  $L^*$ ,  $C^*$  e  $h^\circ$ , com  $L^*$  sendo a luminosidade,  $C^*$  sendo o croma (ou intensidade de cor) e  $h^\circ$  sendo o ângulo de matiz (Figura 12) (Malheiros, 2007). Este último varia entre  $0^\circ$  e  $360^\circ$ , onde  $0^\circ$  corresponde à cor vermelha,  $90^\circ$  corresponde à cor amarela,  $180^\circ$  corresponde à cor verde e  $360^\circ$  corresponde à cor azul (Lima et al., 2009; Malheiros, 2007).

O Croma é a relação entre os valores  $a^*$  e  $b^*$ , onde se obtém a cor real do objeto analisado (Harder et al., 2007), sendo o grau de saturação (Porto, 2007) e a quantidade pela qual uma dada matiz se desvia do cinzento neutro (Malheiros, 2007).

O ângulo de matiz é o ângulo formado entre  $a^*$  e  $b^*$ , (Harder et al., 2007) sendo frequentemente utilizado para definir a cor do objeto (Porto, 2007), bem como o que tipicamente o consumidor considera como sendo a cor do objeto, a luminosidade e o brilho do objeto (Malheiros, 2007).

O valor  $L^*$  é uma propriedade acromática, ou seja, existe com a ausência de qualquer matiz, sendo a variação do brilho que a matiz apresenta, refere-se diretamente à reflexão da luz, sendo responsável pelo aspecto da vitalidade da estrutura dental e está diretamente relacionada com o grau de opacidade, de translucidez e transparência de uma estrutura sendo considerada a característica mais importante na escolha da cor (Porto, 2007).



**Figura 12:** Diagramas de representação do espaço de cores CIELCH: disposição tridimensional, mostrando as coordenadas  $L^*$ ,  $C^*$  e  $h^\circ$  (A) e disposição bidimensional, mostrando as coordenadas  $C^*$  e  $h^\circ$  (B) (Malheiros, 2007)

Os valores para as coordenadas valor, intensidade de cor (croma) e ângulo de matiz (h°) foram calculados utilizando as seguintes equações 1, 2 e 3 (Veja-Gálvez et al., 2009):

$$\text{Croma} = \sqrt{a^{*2} + b^{*2}} \quad (1)$$

$$\text{Angulo de matiz} = \tan^{-1} \left( \frac{b^*}{a^*} \right) \quad (2)$$

$$\text{Valor} = \frac{L^*}{10} \quad (3)$$

### 7.2.3. Textura

O estudo da textura das physalis é utilizado principalmente para fins científicos e fornece informações sobre a capacidade de armazenamento e resistência a lesões do produto durante o armazenamento e comercialização (Chiabrando et al., 2009).

As análises foram realizadas com um texturômetro “Texture Analyser”, modelo “TA.XT Plus” da “Stable Microsystems”, do Reino Unido. Foi usada uma sonda cilíndrica de 2 mm de diâmetro e uma célula de carga de 5 Kg. A velocidade do teste foi de 1,0 mm/s, a velocidade pré-teste foi de 1,5 mm/s e pós-teste foi de 10,0 mm/s. As physalis foram sempre penetradas pelo lado sagital, e a firmeza dos frutos foi avaliada pela resistência da pele à penetração da sonda.

Os resultados foram tratados com o software Exponent (Stable Micro Systems) e a partir dos perfis de textura (Figura 13) obtidos foi determinada a firmeza (força no pico mais alto) e a elasticidade (distância no ponto mais alto).

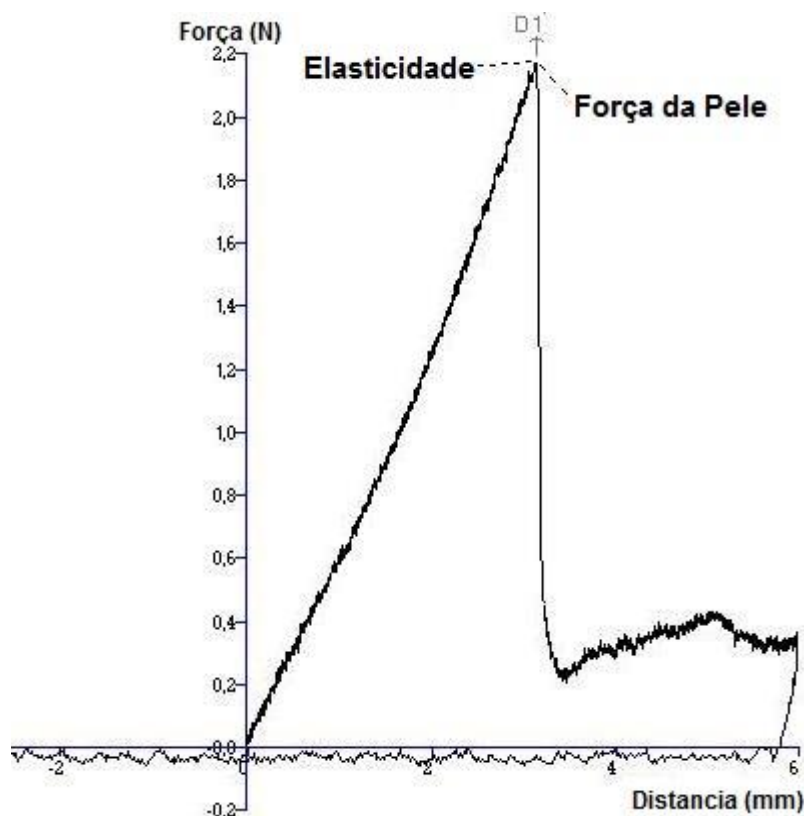


Figura 13: Análise do perfil de textura para physalis

### 7.3. Análises químicas

Foram realizadas várias determinações químicas, tais como o teor de humidade, o teor de fibra bruta (método de Weende com “Dosi-fiber” Selecta), açúcares totais e açúcares redutores (método de Luff-Schoorl segundo a NP-1420), determinação da acidez titulável (NP-1421), determinação do teor de sólidos solúveis (°Brix) (Refratômetro para o índice de Brix; NP-785), determinação do ácido ascórbico (por titulação com 2,6-dicloroindofenol (DIP)), determinação dos carotenoides, determinação dos fenóis totais (Método Folin-Ciocalteu), determinação dos orto-difenóis determinação dos flavonóides determinação da atividade antioxidante (pelos métodos DPPH e ABTS) e a simulação *in vitro* das condições ao longo do trato digestivo, As análises químicas foram efetuadas em triplicado.

### 7.3.1. Humidade

Para a determinação da humidade utilizou-se o método de perda de peso após desidratação até se obter peso constante, recorrendo a uma balança de halogéneo (Mettler Toledo, HG53), a uma temperatura de 120 ° C e velocidade 3 (numa escala de 1 a 5, sendo 1 muito rápido e 5 muito lento). O processo foi repetido 3 vezes para cada amostra.

### 7.3.2. Fibra Bruta

Entende-se por fibra bruta as frações de celulose e lignina insolúvel. Do ponto de vista químico, fibra bruta é a parte dos hidratos de carbono resistente ao tratamento sucessivo com ácido e base diluídos (Rodrigues, 2010).

Para a determinação da fibra bruta o procedimento seguido foi descrito por Patarra et al. (2010), com algumas alterações, utilizando o método de Weende com “Dosi-fiber Selecta”, que consiste em submeter as amostras a uma digestão ácida, com solução de ácido sulfúrico 1,25% (v/v), seguida por digestão alcalina com hidróxido de sódio 1,25% (m/v).

Para a determinação da fibra bruta, os cadinhos filtrantes de porosidade 2 foram colocados previamente na estufa a 105 °C durante 3 horas até se obter um peso constante, de seguida foram colocados num exsiccador até arrefecer. Após se encontrarem arrefecidos foram pesados e novamente pesados após a adição de cerca de 1 g de amostra liofilizada.

Posteriormente, os cadinhos filtrantes foram colocados no dosi-fiber, onde foram colocados cerca de 150 mL de solução de H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> (1,25%), previamente aquecido em cada coluna do equipamento.

As resistências de aquecimento foram colocadas a 90% até ao reagente entrar em ebulição, após isso o aquecimento foi colocado a 60% durante 30 minutos. Após este tempo foram desligadas as resistências e abertas as válvulas de aspiração, sendo o reagente eliminado.

Posteriormente, cada coluna é lavada com cerca de 150 mL de água destilada, previamente aquecida. Sendo o mesmo procedimento repetido cerca de duas vezes. Seguidamente, as válvulas de aspiração foram novamente fechadas e

adicionados cerca de 150 mL de NaOH (1,25%) previamente aquecido em cada coluna de aquecimento.

As resistências de aquecimento foram colocadas a 90% até ao reagente entrar em ebulição, após isso o aquecimento foi colocado a 60% durante 30 minutos. Após este tempo foram desligadas as resistências e abertas as válvulas de aspiração, sendo o reagente eliminado.

Posteriormente, cada coluna é lavada com cerca de 150 mL de água destilada, previamente aquecida. Sendo o mesmo procedimento repetido cerca de duas vezes. Após este tempo foram desligadas as resistências e abertas as válvulas de aspiração, sendo o reagente eliminado.

Os cadinhos filtrantes foram retirados do dosi-fiber e colocados num kitasato, onde foram lavados com filtração a vaco juntando cerca de 5 mL de acetona, repetindo o procedimento três vezes cada cadinho filtrante.

Posteriormente foram colocados numa estufa, a 105 ° C até peso constante, e pesar de seguida. Posteriormente, os cadinhos filtrantes foram colocados na mufla a 550 ° C durante 3 horas. De seguida foram colocados num exsiccador a arrefecer. Após arrefecimento foram pesados de novo.

A quantificação da fibra bruta da amostra determina-se aplicando o seguinte cálculo 4:

$$\% \text{ Fibra Bruta} = \frac{(W_1 - W_2)}{W_0} * 100 \quad (4)$$

Onde,

$W_0$  = peso da amostra

$W_1$  = Peso cadinho + amostra (após a ultima saída da estufa)

$W_2$  = peso cadinho + amostra (após a saída da mufla)

### 7.3.3. Açúcares Totais

A determinação dos açúcares totais na physalis foi avaliada segundo a técnica de Luff-Schoorl e foi efetuada nas condições descritas na norma portuguesa NP-1420, que se destina a frutos, produtos hortícolas e seus derivados. Foi efetuada

uma modificação no procedimento experimental inicial, tendo-se alterado o tempo de ebulição de 8 para 30 minutos com o objetivo de permitir a extração completa dos açúcares.

Para a determinação dos açúcares totais, pesou-se cerca de 1 g de amostra, e colocou-se num balão de diluição de 200 mL, onde seguidamente foi lavado com 50 mL de água destilada.

Posteriormente procedeu-se à defecação, onde foram adicionados 12,5 mL de solução de Carrez I e 12,5 mL de solução de Carrez II, agitou-se e adicionou-se água destilada até perfazer o volume do balão sendo a solução novamente agitada. Foi colocado um filtro juntamente com um papel de filtro num kitasato, onde foi filtrada a solução após ter iniciado a formação de um precipitado branco.

Posteriormente, foi efetuada a inversão, que consiste em retirar cerca de 50 mL do filtrado obtido após a defecação para um erlenmeyer, foram adicionados 3,5 mL de ácido clorídrico (1,19 g/cm<sup>3</sup>). Agitou-se e colocou-se em banho-maria a 69 °C durante 5 minutos (até que o líquido no interior atinja essa temperatura). Procedeu-se a um arrefecimento imediato e neutralizou-se com uma solução de NaOH (com a presença do indicador de fenolftaleína, até mudança de cor rosa). Foram adicionadas umas gotas de ácido clorídrico para tornar o meio ácido. Depois a solução foi agitada, transferida para um balão de diluição de 100 mL e perpez-se o volume com água destilada. Este procedimento foi repetido novamente.

De seguida foram retirados 10 mL da solução, obtida na inversão e adicionaram-se 25 mL da solução de Luff-Schoorl num balão de fundo redondo de 250 mL, adicionou-se água destilada de modo a perfazer o volume total de 50 ml e foram utilizados reguladores de ebulição.

O balão foi adaptado a um condensador de refluxo e colocado numa manta de ebulição (Heating Mantles Model 655) onde foi à ebulição durante 30 minutos. Depois de decorrido esse tempo foi arrefecido imediatamente em água corrente sem agitar, 2 minutos após o arrefecimento adicionou-se 9 mL de solução de iodeto de potássio e adicionados 20 mL de ácido sulfúrico e agitou-se até cessar a efervescência.

De seguida titulou-se o iodo libertado com a solução de tiosulfato de sódio juntando-se 2 mL de cozimento de amido após apresentar uma coloração mostarda, até viragem da cor azul para uma cor creme/branco.

Por cada inversão efetuada este procedimento foi repetido mais duas vezes.

É através da diferença de volumes da solução de tiosulfato de sódio gasto no ensaio em branco e na determinação que se encontra a massa de açúcar invertido, expressa em miligramas mediante a Tabela 3.

**Tabela 3:** Massa de açúcar invertido Extraído de NP- 1420 de 1987

Sol. de tiosulfato de sódio 0,1N	Glucose, frutose ou açúcar invertido	
$\Delta V$ (cm <sup>3</sup> )	mg	$\Delta$
1	2,4	2,4
2	4,8	2,4
3	7,2	2,5
4	9,7	2,5
5	12,2	2,5
6	14,7	2,5
7	17,2	2,6
8	19,8	2,6
9	22,4	2,6
10	25,0	2,6
11	27,6	2,7
12	30,3	2,7
13	33,0	2,7
14	35,7	2,8
15	38,5	2,8
16	41,3	2,9
17	44,2	2,9
18	47,1	2,9
19	50,0	3,0
20	53,0	3,0
21	56,0	3,1
22	59,1	3,1
23	62,2	—

Os açúcares totais foram calculados como uma média de 4 determinações.

#### 7.3.4. Açúcares Redutores

Os monossacarídeos, como a glucose ou a frutose são açúcares redutores por possuírem um grupo carboxilo e cetónico livres, capazes de se oxidarem na presença de agentes oxidantes em soluções alcalinas (Silva et al., 2003).

Os açúcares redutores são determinados por reação de uma porção solúvel em água da amostra com um excesso de sulfato de cobre padrão em tartarato de solução alcalina de modo a que a quantidade de cobre reduzido seja proporcional com a quantidade de açúcares redutores na amostra analisada (Método Schoorl para açúcares redutores). A determinação dos açúcares redutores na *physalis* foi avaliada segundo a técnica de Luff-Schoorl e foi efetuada nas condições da norma portuguesa NP-1420 (destinada a frutos, produtos hortícolas e seus derivados). Foi efetuada uma modificação no procedimento experimental inicial, tendo-se alterado o tempo de ebulição de 8 para 30 minutos com o objetivo de permitir a extração completa dos açúcares.

Para a determinação dos açúcares redutores, pesou-se cerca de 1 g de amostra, e colocou-se num balão de diluição de 200 mL, onde seguidamente foi lavado com 50 mL de água destilada.

Seguidamente procedeu-se à defecação, onde foram adicionados 12,5 mL de solução de Carrez I e 12,5 mL de solução de Carrez II, agitou-se e adicionou-se água destilada até perfazer o volume do balão sendo a solução novamente agitada. Foi colocado um filtro juntamente com um papel de filtro num kitasato, onde foi filtrada a solução após ter iniciado a formação de um precipitado branco.

De seguida foram retirados 10 mL da solução, obtida na defecação e adicionaram-se 25 mL da solução de Luff-Schoorl num balão de fundo redondo de 250 mL, adicionou-se água destilada de modo a perfazer o volume total de 50 mL e foram utilizados reguladores de ebulição.

O balão foi adaptado a um condensador de refluxo e colocado numa manta de ebulição (Heating Mantles Model 655) onde foi à ebulição durante 30 minutos. Depois de decorrido esse tempo foi arrefecido imediatamente em água corrente sem agitar, 2 minutos após o arrefecimento adicionou-se 9 mL de solução de iodeto de potássio e adicionados 20 mL de ácido sulfúrico e agitou-se até cessar a efervescência.

De seguida titulou-se o iodo libertado com a solução de tiosulfato de sódio juntando-se 2 mL de cozimento de amido após apresentar uma coloração mostarda, até viragem da cor azul para uma cor creme/branco.

Por cada inversão efetuada este procedimento foi repetido mais duas vezes.

É através da diferença de volumes da solução de tiosulfato de sódio gasto no ensaio em branco e na determinação que se encontra a massa de açúcar invertido, expressa em miligramas mediante a Tabela 4.

**Tabela 4:** Massa de açúcar invertido Extraído de NP- 1420 de 1987

Sol. de tiosulfato de sódio 0,1N	Glucose, frutose ou açúcar invertido	
	$\Delta V$ (cm <sup>3</sup> )	$\Delta$
1	2,4	2,4
2	4,8	2,4
3	7,2	2,5
4	9,7	2,5
5	12,2	2,5
6	14,7	2,5
7	17,2	2,6
8	19,8	2,6
9	22,4	2,6
10	25,0	2,6
11	27,6	2,7
12	30,3	2,7
13	33,0	2,7
14	35,7	2,8
15	38,5	2,8
16	41,3	2,9
17	44,2	2,9
18	47,1	2,9
19	50,0	3,0
20	53,0	3,0
21	56,0	3,1
22	59,1	3,1
23	62,2	—

Os açúcares redutores foram calculados com uma média de 4 determinações.

### 7.3.5. Determinação da acidez titulável

A determinação da acidez titulável na physalis foi avaliada segundo a norma portuguesa NP-1421 (destinada a frutos, produtos hortícolas e seus derivados). Para tal, pesou-se 5 g de amostra para um erlenmeyer e adicionou-se 50 mL de água destilada previamente fervida, arrefecida e neutralizada até pH7. Adaptou-se um condensador de refluxo e aqueceu-se em banho-maria durante 30 min. Deixou-se arrefecer e transferiu-se o conteúdo para um balão de diluição de 250 mL, e completou-se o volume com água destilada (previamente neutralizada anteriormente). Um filtro G2 foi previamente colocado num kitasato, onde foi filtrado a vacu e transferiu-se o conteúdo para um balão de diluição.

Procedeu-se à titulação de 25 mL da amostra com NaOH 0,025N com indicador de fenolftaleína até viragem para coloração rosada, persistente.

Foram realizados 3 ensaios independentes e cada titulação foi repetida 3 vezes.

### 7.3.6. Determinação do teor de sólidos solúveis (°Brix)

O teor de sólidos solúveis é um parâmetro que tem sido usado como indicador da qualidade dos frutos, sendo de grande importância nos frutos, tanto para o consumo *in natura* como para o processamento industrial, visto que elevados teores desses constituintes na matéria-prima implicam menor adição de açúcares, menor tempo de evaporação da água, menor gasto de energia e maior rendimento do produto, resultando em maior economia no processamento (Silva, et al., 2002).

O Procedimento experimental foi efetuado consoante a Norma Portuguesa NP- 785 de 1985.

Com o auxílio de uma pipeta de Pasteur colocou-se uma gota de sumo extraído de diferentes bagas utilizadas para determinar a concentração de sólidos solúveis, através de um refratómetro de bancada ATAGO 3T, com correção de temperatura. Foram feitas 7 determinações cujo resultado foi expresso em ° Brix, sendo que cada grau Brix corresponde a um grama de sólidos solúveis por 100 gramas de sumo, e assumindo que estes sólidos solúveis correspondem a açúcares.

### 7.3.7. Determinação do ácido ascórbico

O ácido ascórbico também designado de vitamina C (AA) está presente naturalmente em muitos frutos e vegetais. Além de estabelecer uma fixação dos radicais livres e de controlo de escurecimento, esta vitamina é um dos aditivos mais vulgarmente utilizados na indústria alimentar (Gutiérrez et al., 2007), sendo um nutriente essencial para a biossíntese de colagénio e certas hormonas (Rodríguez-Roque et al., 2015).

Para a determinação do ácido ascórbico procedimento seguido foi descrito por Ribeiro (2012).

No presente trabalho determinou-se o teor de ácido ascórbico numa solução aquosa, através de titulação com 2,6-dicloroindofenol (DIP). Durante a titulação de uma solução de ácido ascórbico com DIP, este reagente azul torna-se incolor ao ser reduzido pelo ácido ascórbico. O ponto final da titulação é detetado pela viragem da solução de incolor para rosa.

Para a realização dos ensaios foi necessário preparar previamente determinadas soluções para se poder colocar o protocolo em prática, tais como a solução de ácido-metafosfórico – ácido acético, onde se dissolveu 15 g de ácido metafosfórico em 40 mL de ácido acético em 200 mL de água destilada, e completou-se o volume até perfazer os 500 mL. Uma solução de ácido ascórbico, onde foram pesados 25 mg de ácido ascórbico e dissolvido com a solução ácida acima descrita até ao volume de 25 mL em que 1 mg de ácido ascórbico está para 1 mL, também uma solução padrão de 2,6-diclorofenol-indofenol, onde foram dissolvidos cerca de 50 mg de 2,6-diclorofenol-indofenol em 50 mL de água com 42 mg de bicarbonato de sódio. Agitou-se lentamente e perpez-se um volume de 200 mL.

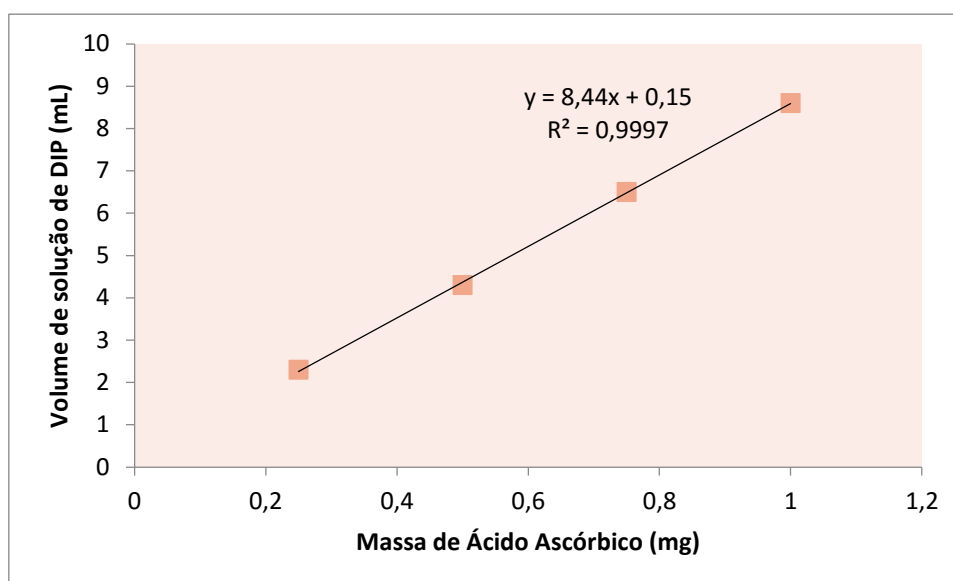
Na preparação da amostra, foram pesadas cerca de 5 g de amostra e colocaram-se num almofariz e adicionaram-se 10 mL de ácido oxálico e uma pequena quantidade de areia. Moeu-se muito bem a amostra durante cerca de 3 minutos. Após este tempo adicionaram-se mais 10 mL de ácido oxálico e moeu-se durante mais 3 minutos, obtendo-se assim o extrato. Filtrou-se o extrato num kitasato com um funil e papel de filtro sob vácuo.

Transferiu-se 5 mL do filtrado para um erlenmeyer de 50 mL, foram adicionados 10 mL de solução de ácido oxálico e 1 mL de solução HCl 1,0 N, seguidamente procedeu-se a titulação.

Foram realizados 2 ensaios independentes em duplicado para cada amostra e cada titulação foi repetida pelo menos 2 vezes

Para a quantificação foi elaborada uma curva de calibração, foram transferidos 9 mL de solução de ácido oxálico a 1% e 1mL de ácido clorídrico (HCl) 1,0 N, para quatro erlenmeyeres distintos, onde foram adicionados 4 volumes distintos de ácido ascórbico (0,5 mg/mL): 0.5, 1.0, 1.5, e 2.0 mL respetivamente. Seguidamente efetuou-se a titulação de cada uma das soluções nos 4 erlenmeyeres com solução DIP, até que permaneça a cor rosa durante 5 segundos. Com os volumes obtidos foi realizada a curva de calibração.

Na Figura 14 está representada a curva de calibração utilizada.



**Figura 14:** Curva de calibração para a determinação do teor em ácido ascórbico (Ajuste por correlação linear com método dos mínimos quadrados).

### 7.3.8. Determinação dos carotenoides

Os carotenoides são encontrados na natureza constituindo o maior grupo de corantes naturais (Hiane et al., 2003), existindo mais de 600 estruturas caracterizadas, identificadas em organismos fotossintetizantes e não

fotossintetizantes, como plantas superiores, algas, fungos, bactérias, e em alguns animais (Uenojo et al., 2007). Alguns carotenoides são precursores de vitamina A (Hiane et al., 2003).

Para a determinação dos carotenoides o procedimento seguido foi descrito por Carvalho et al. (2012).

Para a determinação dos carotenoides foi pesado aproximadamente 5 g de amostra juntamente com 1 g de celite e colocado num almofariz, onde foram efetuadas sucessivas vezes adições de 25 mL de acetona até se obter uma pasta. Com a ajuda de um de um filtro G2 e de um kitasato a pasta foi filtrada sob vácuo. Este procedimento foi repetido três vezes ou até a amostra se tornar incolor.

O extrato obtido foi transferido para uma ampola de decantação de 500 mL, contendo 40 mL de éter de petróleo, onde foram adicionadas lentamente pequenas quantidades de água destilada para a remoção da acetona, onde a fase aquosa foi descartada. Este procedimento repetido quatro vezes, até não haver solvente residual.

De seguida com a ajuda de um kitasato e de um funil, onde foi colocado algodão e cerca de 15 g de sulfato de sódio anidro para se proceder a uma segunda filtração sob vácuo e medido o volume obtido.

O volume obtido foi transferido para um balão de diluição de 50 mL, onde o seu volume foi completado com éter de petróleo. As amostras foram lidas num espectrofotómetro UV Mini-1240 (Shimadzu, Japão), com um comprimento de onda de 450 nm.

O conteúdo de carotenoides totais foi calculado pela seguinte fórmula 4:

$$\text{Carotenoides Totais } \left( \frac{\mu\text{g}}{\text{g}} \right) = \frac{A * V(\text{ml}) * 10^4}{A_{1\text{cm}}^{1\%} * P(\text{g})} \quad (4)$$

Onde:

A = Absorvância

V = Volume total do extrato final

P = massa da amostra

$A_{1\text{cm}}^{1\%} = 2592$  (coeficiente de extração do  $\beta$ -caroteno no éter de petróleo)

Foram realizados 3 ensaios independentes.

#### **7.4. Obtenção dos Extratos para a caracterização fenólica**

A obtenção dos extratos para a caracterização fenólica, foi feita por adaptação do método descrito por Oliveira et al. (2011), Utilizou-se uma razão massa-solução extratora de 1:20 (g:mL), tendo-se testado três métodos diferentes: método A: foram realizadas 3 extrações sequenciais com recurso a acetona:metanol (70:30, v:v), metanol:água (70:30, v:v) e metanol:água:ácido acético (50:40:10, v:v:v).

Num erlenmeyer de 50 mL foi colocado 1 g de amostra liofilizada, e em seguida foram adicionados 20 mL da primeira solução extratora, ficando o erlenmeyer em repouso durante 45 minutos a 58 °C. De seguida, a solução foi filtrada num kitasato com o auxílio de uma bomba de vácuo. O material retido foi recolhido e transferido para outro erlenmeyer de 50 mL onde também foram adicionados 20 mL da segunda solução extratora, em que o erlenmeyer ficou novamente em repouso durante 45 minutos a 58 °C. Depois a solução foi filtrada num kitasato com o auxílio de uma bomba de vácuo, repetindo-se os procedimentos para a terceira solução extratora como descrito para as duas primeiras.

Método B: este método foi realizado tendo em atenção os resultados obtidos pelo método A, foi pesado um grama de amostra liofilizada e realizadas 2 extrações sequenciais com recurso a duas soluções extradoras, primeira extração - metanol:água (70:30, v:v) e a segunda extração – acetona:metanol (70:30, v:v). O procedimento experimental foi o mesmo anteriormente descrito no método A, tendo apenas trocado as soluções extradoras.

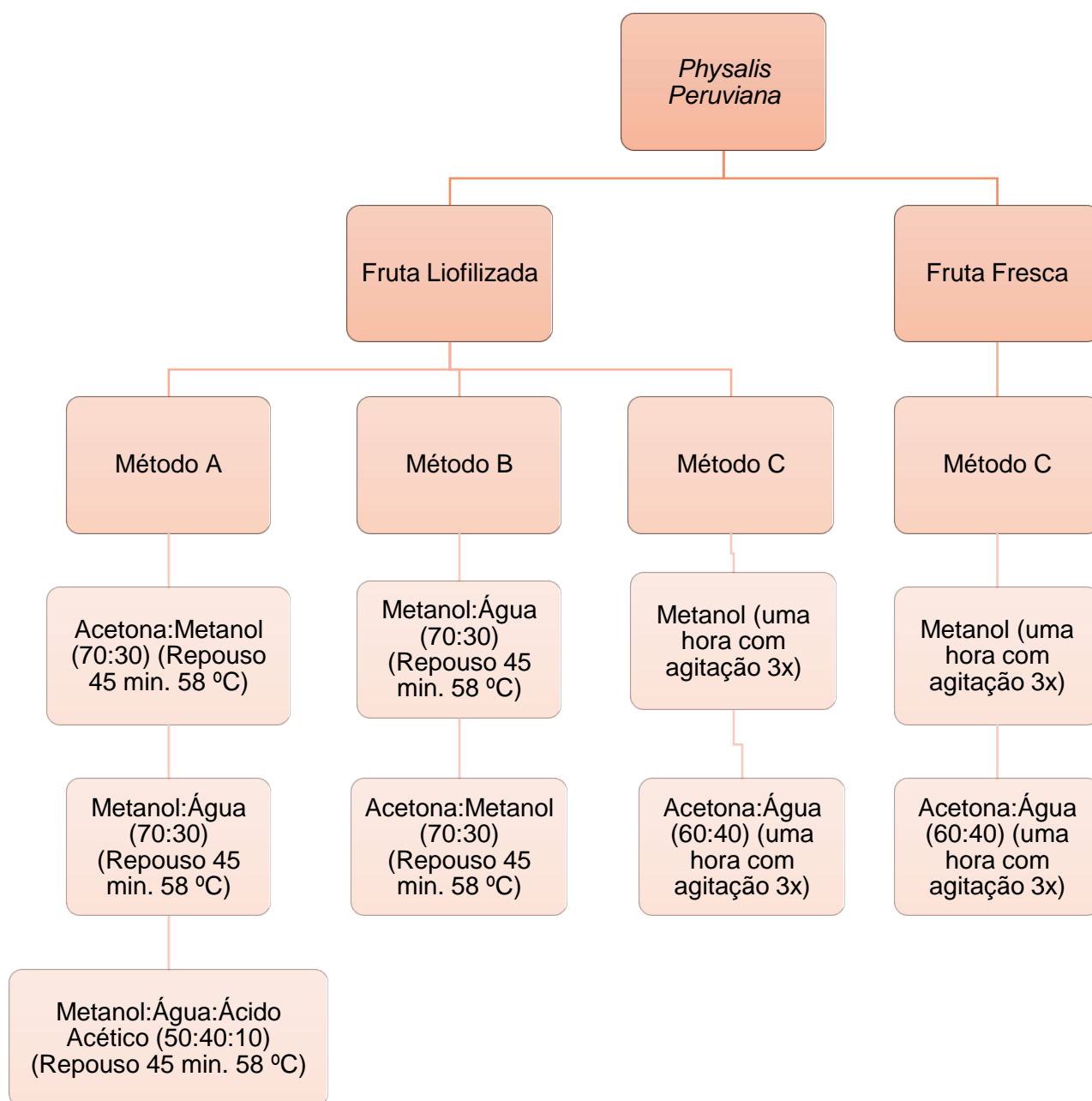
Método C: foram realizadas 6 extrações sequenciais com recurso a metanol e acetona:água (60:40, v:v). Foram usadas: 1 grama de amostra liofilizada (á semelhança do método A e B) ou 6 g de amostra fresca para 20 mL solução extratora. Num erlenmeyer de 50 mL foi colocado 1 g de amostra liofilizada e juntou-se 20 mL da primeira solução extratora, que permaneceu em agitação durante uma hora, após este tempo a solução foi filtrada num kitasato com o auxílio de uma bomba de vácuo. O material retido foi recolhido e transferido para um erlenmeyer e voltou-se a adicionar mais 20 mL da primeira solução extratora. Este procedimento foi repetido mais uma vez. Após a terceira vez o material obtido foi transferido para

um erlenmeyer onde foram adicionados 20 mL da segunda solução extratora, e o procedimento foi igual ao descrito anteriormente. O procedimento acima descrito foi então repetido tendo-se utilizado uma massa de 6 g de amostra fresca.

De referir que, embora para este método tenham sido efetuadas 6 extrações, apenas foram considerados os resultados das duas primeiras, visto que nas extrações seguintes as quantidades encontradas foram vestigiais, não sendo contabilizadas para o estudo.

Por cada método foram realizados 2 ensaios independentes. Foram posteriormente realizados testes estatísticos para que os resultados das 3 análises feitas com base em cada uma das duas amostras fossem compilados, permitindo assim calcular uma média e um desvio padrão com base em 6 observações para cada um dos métodos realizados.

A Figura 15 representa o esquema dos métodos realizados para a obtenção dos extratos, a Tabela 5 apresenta a codificação dos solventes usados na extração. Estes extratos foram utilizados para a determinação dos compostos fenólicos totais, a determinação dos orto-difenóis, a determinação dos flavonóides, a determinação da atividade antioxidante e da bioacessibilidade.



**Figura 15:** Esquema dos métodos realizados para a obtenção de extratos

**Tabela 5:** Codificação dos extratos para a caracterização fenólica

Código	Nomenclatura
Me	Metanol
AcAg	Acetona:Água
AcMe	Acetona:Metanol
MeAg	Metanol:Água
MeAgAa	Metanol:Água:Ácido Acético

## 7.5. Análise da composição fenólica

Determinação da composição fenólica das bagas foi feita a partir de extratos obtidos anteriormente.

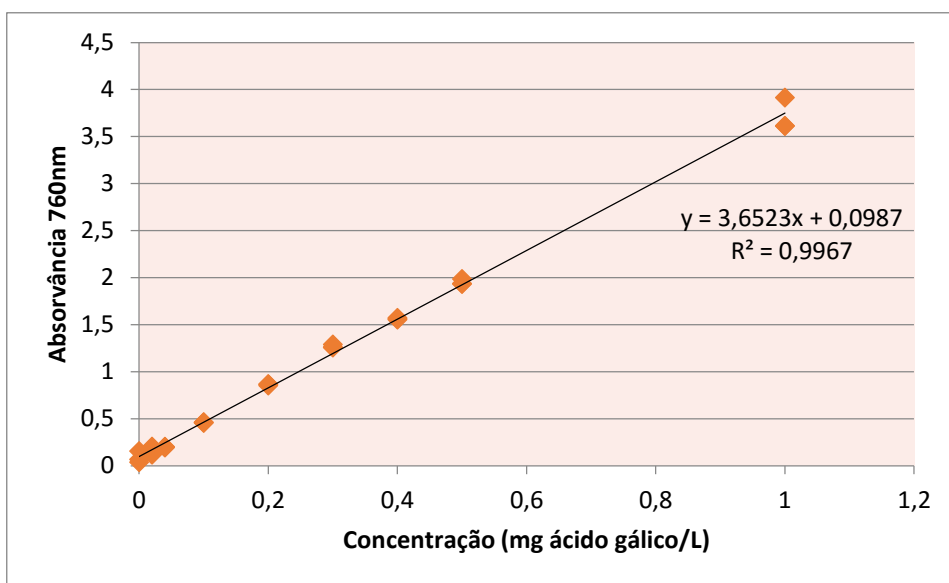
### 7.5.1. Determinação dos compostos fenólicos totais

A quantificação de compostos fenólicos totais foi realizada pelo método espectrofotométrico de Folin-Ciocalteu (Kuskoski et al., 2006), que é empregue com o objetivo de detetar todas as classes de compostos poli-hidroxifenólicos (Rocha et al., 2011), no qual a mistura dos ácidos fosfotungstíco e fosfomolibdico, que em meio básico se reduz ao oxidar os compostos fenólicos, originando óxidos azuis de volfrâmio ( $W_8 O_{23}$ ) e molibdeno ( $Mo_8 O_{23}$ ) (Kuskoski et al., 2006).

No procedimento experimental, juntou-se num tubo de 10 mL, 125  $\mu$ L de amostra diluída, 750  $\mu$ L de água destilada e 125  $\mu$ L de reagente de Folin, e esperou-se 6 minutos. Após o tempo de espera juntaram-se 2 mL de carbonato de sódio a 5% e esperou-se 60 minutos à temperatura ambiente no escuro. Após este tempo de espera procedeu-se à leitura da absorvância num espectrofotómetro UV Mini-1240 (Shimadzu, Japão), num comprimento de onda de 760 nm, tendo todas as leituras sido realizadas em triplicado.

Em paralelo foi realizado um branco nas mesmas condições e substituíram-se os 125  $\mu$ L de amostra, por 125  $\mu$ L de água destilada.

Paralelamente determinou-se uma curva de calibração com soluções padrão de ácido gálico com diferentes concentrações com uma solução mãe de concentração 1 g/L. O teor em compostos fenólicos de cada amostra foi então determinado pela interpolação dos valores obtidos colorimetricamente na curva de calibração (Figura 16). Os resultados foram expressos em mg de equivalentes de ácido gálico (Equivalentes de Ácido Gálico (GAE)) por 100 gramas de amostra.



**Figura 16:** Curva de calibração para os compostos fenólicos totais (Ajuste por correlação linear com método dos mínimos quadrados).

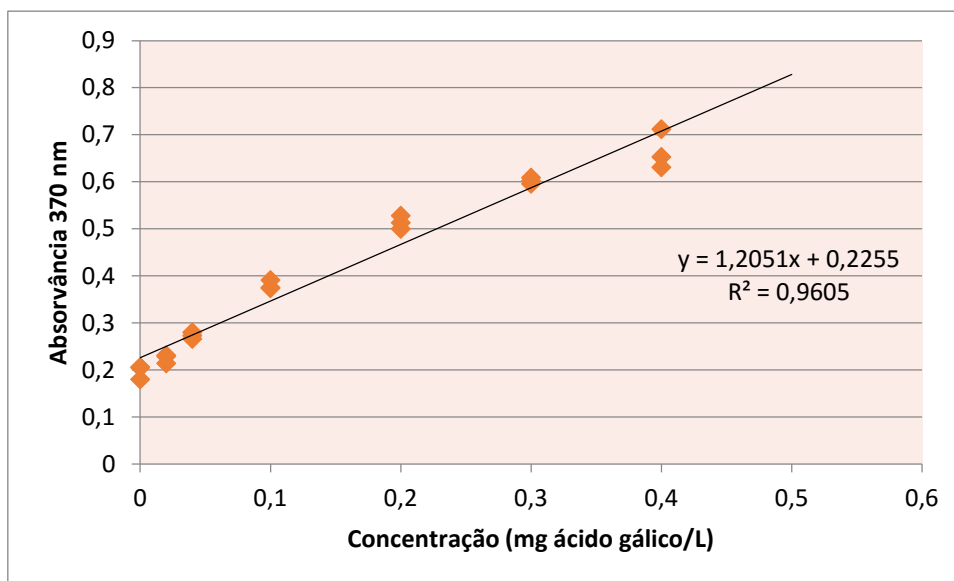
### 7.5.2. Determinação do teor em Orto-difenóis

O teor em orto-difenóis foi determinado colorimetricamente por complexação dos orto-difenóis com os iões molibdato, originando uma coloração alaranjada.

O procedimento experimental foi adaptado de Santos et al. (2014), para preparar a solução de molibdato de sódio, foram pesados 5 gramas de molibdato de sódio, dissolvendo-se numa solução de metanol:água (50: 50 v,v).

Num tubo de 10 mL foram adicionados 0,5 ml de amostra devidamente diluída e 1 mL de solução a 5% de molibdato de sódio, agitou-se e permaneceu à temperatura ambiente durante 15 minutos, e continuamente efetuou-se a leitura das amostras a um comprimento de onda de 370 nm.

Paralelamente determinou-se uma curva de calibração com soluções padrão de ácido gálico com diferentes concentrações. O teor em orto-difenóis de cada amostra foi então determinado pela interpolação dos valores obtidos colorimetricamente na curva de calibração (Figura 17). Os resultados foram expressos em mg de ácido gálico por 100 gramas de amostra.

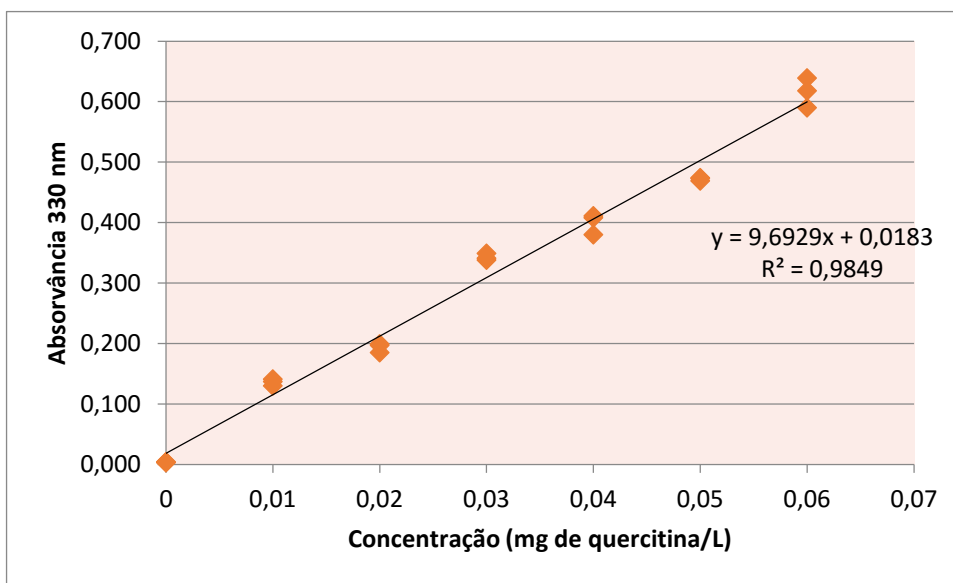


**Figura 17:** Curva de calibração para a determinação de orto-difenóis (Ajuste por correlação linear com método dos mínimos quadrados)

### 7.5.3. Determinação do teor em Flavonóides

Para a determinação dos flavonóides seguiu-se o método de Meda et al. (2005), onde num tubo de 10 mL foram adicionados 0,5 mL de extrato devidamente diluído com uma solução metanólica de cloreto de alumínio a 2%. Agitou-se e colocou-se no escuro durante 10 minutos, e seguidamente efetuou-se a leitura da absorvância das amostras a um comprimento de onda de 330 nm, em cuvetes de quartzo.

Paralelamente determinou-se uma curva de calibração com soluções padrão de quercitina com diferentes concentrações. O teor em flavonóides de cada amostra foi então determinado pela interpolação dos valores obtidos colorimetricamente na curva de calibração (Figura 18). Os resultados foram expressos em mg de quercitina (EQ) por 100 gramas de amostra.



**Figura 18:** Curva de calibração para a determinação de Flavonóides (Ajuste por correlação linear com método dos mínimos quadrados)

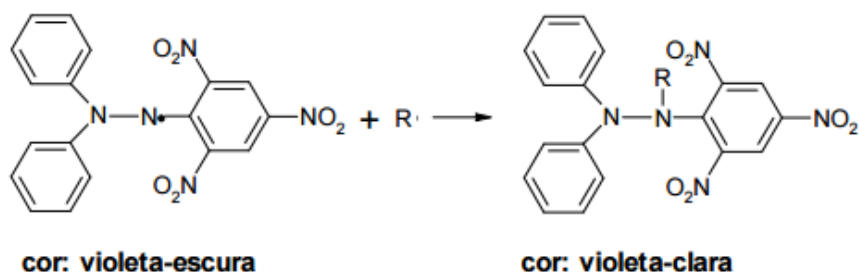
## 7.6. Determinação da atividade antioxidante

Existem diversos métodos que podem ser baseados na captura do radical piróxila (ORAC e TRAP), poder de redução do metal (FRAP e CUPRAC), captura do radical hidroxilo (método de desoxirribose), captura do radical orgânico (ABTS e DPPH), quantificação de produtos formados durante a peroxidação de lipídios (TBARS, oxidação do LDL e co-oxidação do betacaroteno), e dentre estes métodos ABTS, FRAP, DPPH e ORAC são alguns dos mais usados atualmente (Rufino et al., 2007).

### 7.6.1. Avaliação da atividade antioxidante pelo método DPPH

A determinação da atividade antioxidante pelo método DPPH é baseado na captura do radical DPPH (2,2-difenil-1-picrilhidrazila) por oxidantes, produzindo um decréscimo de absorvância a 515 nm (Rufino et al., 2007), devida à transferência de elétrons. Por ação de um antioxidante ou uma espécie radicalar o DPPH, que possui cor púrpura, e é reduzido formando difenil-picril-hidrazina, de coloração amarela como pode ser visualizado na Figura 19, tendo como consequência o

desaparecimento da absorção. A partir dos resultados obtidos determina-se a percentagem de inibição (Nascimento et al., 2011).



**Figura 19:** Estabilização do radical livre DPPH (Rufino et al., 2007).

A quantificação da atividade antioxidante foi realizada pelo método de DPPH adaptado de Rufino et al. (2007).

Para a realização experimental foi utilizada uma solução de DPPH com uma absorvância aproximada dos 0,700.

Num tubo de 10 mL adicionaram-se 2 mL da solução de DPPH e 0,1 mL de amostra, paralelamente efetuou-se um branco onde se substituiu a amostra por 0,1 mL de água. Esperou-se 30 minutos à temperatura ambiente no escuro. Após este tempo de espera procedeu-se à leitura da absorvância num espectrofotómetro UV Mini-1240 (Shimadzu, Japão), num comprimento de onda de 515 nm, em que todas as leituras foram realizadas em triplicado.

A capacidade de eliminar o radical DPPH (% de Inibição) foi calculada utilizando-se a seguinte equação 5:

$$\% \text{ de Inibição} = \frac{A_C - A_A}{A_A} * 100 \quad (5)$$

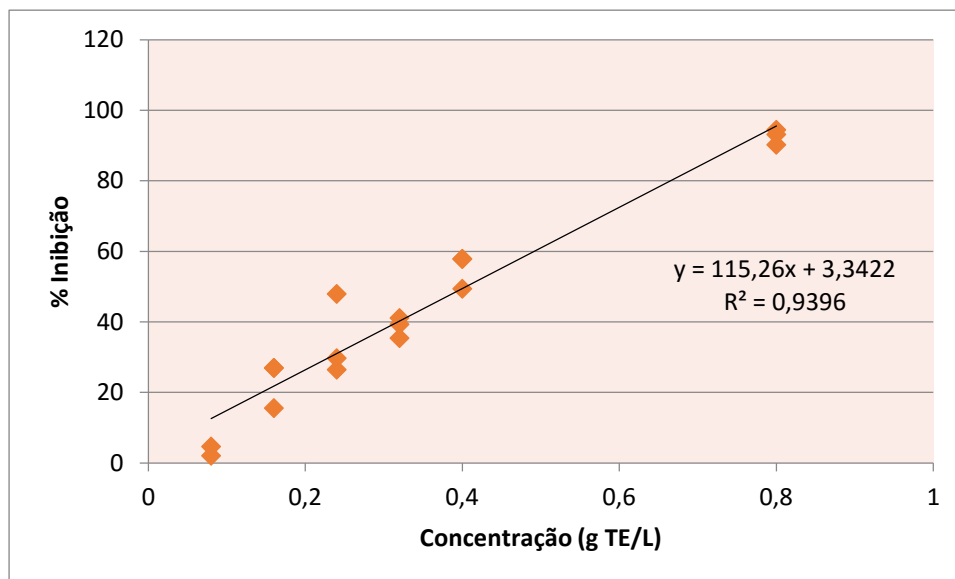
Onde:

$A_C$  = absorvância da solução de DPPH sem a amostra

$A_A$  = absorvância da amostra com o DPPH

Paralelamente determinou-se uma curva de calibração com soluções padrão de Trolox com diferentes concentrações. A atividade antioxidante de cada amostra

foi então determinada pela interpolação dos valores obtidos de percentagem de inibição na curva de calibração (Figura 20). Os resultados foram expressos em  $\mu\text{mol}$  de equivalentes de Trolox (TE) por grama de amostra.



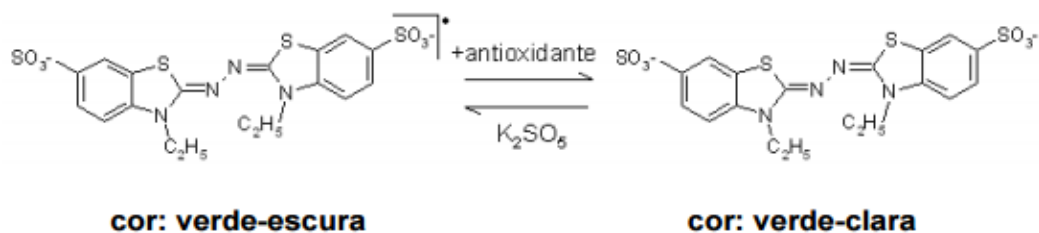
**Figura 20:** Curva de calibração para a determinação da atividade antioxidante pelo método de DPPH (Ajuste por correlação linear com método dos mínimos quadrados)

### 7.6.2. Avaliação da atividade antioxidante pelo método ABTS

Assim como o DPPH $\cdot$ , o ABTS $^{+\cdot}$  apresenta excelente estabilidade em determinadas condições de análise. Porém, estes radicais apresentam algumas diferenças importantes. O radical DPPH $\cdot$  já vem pronto para ser utilizado e é solúvel em solventes orgânicos, enquanto o ABTS $^{+\cdot}$  por sua vez necessita de ser gerado antes, por reações químicas (como o persulfato de potássio) ou enzimáticas, e, é solúvel tanto em água como em solventes orgânicos, permitindo a análise tanto de amostras hidrofílicas como lipofílicas (Tiveron, 2010).

Os efeitos defensivos dos antioxidantes naturais em frutas e vegetais estão relacionados a três grandes grupos: ácido ascórbico, compostos fenólicos como os antioxidantes hidrofílicos e carotenoides como os antioxidantes lipofílicos (Borges et al., 2011). Este é um dos métodos mais utilizados para medir a atividade antioxidante e é através da captura do radical 2,2 - azinobis (3-etilbenzotiazolina-6-ácido sulfônico) (ABTS), que pode ser gerado através de uma reação química,

eletroquímica ou enzimática (Figura 21). Com essa metodologia, pode-se medir a atividade de compostos de natureza hidrofílica e lipofílica (Rufino et al., 2007). É um método relativamente simples, o que permite a sua aplicação em análises de rotina em laboratórios. Além disso, oferece vários máximos de absorção e uma boa solubilidade (Tiveron, 2010).



**Figura 21:** Estabilização do radical  $ABTS^+$  por um antioxidante e sua formação pelo persulfato de potássio (Rufino et al., 2007)

No procedimento experimental foi preparada uma solução de ABTS a 7 mM, onde foi necessário preparar uma solução de persulfato de potássio ( $K_2S_2O_8$ ), e guardar protegida no escuro durante 12 a 16 horas. Após este tempo diluiu-se 1 mL desta solução em 80 mL de etanol ou solução tampão antes de ser utilizada. No espectrofotômetro UV Mini-1240 (Shimadzu, Japão), foi realizado um auto zero com solução tampão a 734 nm. Com a solução tampão colocou-se a solução com uma absorvância aproximadamente a 0,700.

Num tubo de 10 mL colocou-se 2 mL de solução ABTS e 0,1 mL de amostra apropriadamente diluída ou água (para a realização do branco), e agitou-se. Guardou-se no escuro durante aproximadamente 15 minutos e seguidamente procedeu-se à leitura da absorvância a 734 nm, e determinou-se a percentagem de inibição com a seguinte equação 6:

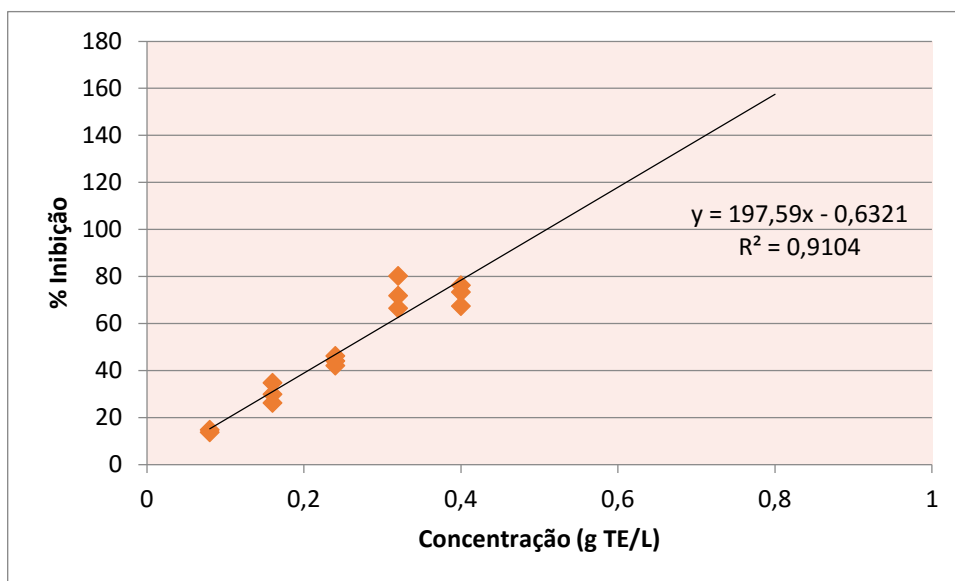
$$\% \text{ de Inibição} = \frac{A_C - A_A}{A_A} * 100 \quad (6)$$

Onde:

$A_C$  = absorvância da solução de ABTS sem a amostra

$A_A$  = absorvância da amostra com o ABTS

Paralelamente determinou-se uma curva de calibração com soluções padrão de Trolox com diferentes concentrações. A atividade antioxidante de cada amostra foi então determinado pela interpolação dos valores obtidos de percentagem de inibição na curva de calibração (Figura 22). Os resultados foram expressos em  $\mu\text{mol}$  de equivalentes de Trolox (TE) por grama de amostra.



**Figura 22:** Curva de calibração para a determinação da atividade antioxidante pelo método de ABTS (Ajuste por correlação linear com método dos mínimos quadrados)

### 7.7. Simulação *in vitro* das condições do trato digestivo

Para se efetuar a simulação *in vitro* das diferentes etapas do sistema digestivo foi usado o modelo proposto por McDougal et al. (2005). No procedimento experimental foi necessário preparar diversas soluções, uma de cloreto de sódio a 1% (m/v) (pesaram-se 5 g de cloreto de sódio (NaCl) e dissolveu-se em 500 mL água destilada), uma solução salina de  $\alpha$ -amílase a 1% (m/v) a pH 6,5, uma solução salina de pepsina 1% (m/v) a pH 2, uma solução salina de pancreatina a 0,3 % (m/v) a pH 7 e uma solução de sais biliares a 1 % (m/v) a pH 7.

Para o processamento experimental *in vitro* das condições do trato digestivo, foram testadas primeiramente as condições na boca, tendo a tubo de 10 mL sido adicionados 2 mL de amostra e 2 mL da solução de  $\alpha$ -amílase, que depois se deixou

reagir durante 2 minutos a 37 °C. Posteriormente foram testadas as condições no estômago, onde num novo tubo de ensaio de 10 mL foram adicionados 2 mL da solução anterior e 2 mL da solução de pepsina e deixou-se reagir durante 2 horas a 37 °C. Por último foram testadas as condições do intestino, e num novo tubo de ensaio foram adicionados 2 mL da solução anterior e 1 mL da solução de pancreatina e 1 mL da solução de sais biliares e deixou-se reagir durante 2 horas a 37 °C.

Foram realizados 2 ensaios controlo, com as mesmas condições simuladas, no primeiro ensaio a solução de cloreto de sódio substituiu as enzimas, tendo sido utilizada uma solução de NaCl pH 6,5 em vez da solução de  $\alpha$ -amílase, uma solução de NaCl pH 2 em vez da solução de pepsina e uma solução de NaCl pH 7 em vez da solução de pancreatina e solução de sais biliares. No segundo ensaio foram utilizadas as mesmas condições originais e apenas se substituiu a amostra por ácido gálico.

No final de cada etapa foi avaliado o teor de compostos fenólicos pelo método espectrofotométrico de Folin-Ciocalteu e a atividade antioxidante pelo método ABTS

## **7.8. Tratamento estatístico**

Todos os valores são apresentados na forma de média e respetivos desvio padrão. Foram feitos ajustes por regressão linear com o método dos mínimos quadrados para as retas de calibração e para as correlações entre variáveis.

Os resultados relativos à composição fenólica, atividade antioxidante e da bioacessibilidade foram sujeitos a uma análise estatística, recorrendo ao software SPSS, versão 22, e as comparações entre grupos para todos os parâmetros avaliados foram testadas pelos testes de Kruskal Wallis (KW) e U Mann Whitney (UMW), sendo ainda utilizada ANOVA com teste de Tukey para comparações múltiplas. Em todos os testes, o nível de significância considerado foi de 5% ( $p < 0,05$ )



## 8. Apresentação e Discussão de Resultados

### 8.1. Caracterização Física

#### 8.1.1. Características biométricas

Na Tabela 6 encontram-se apresentados os resultados médios e o correspondente desvio padrão para as características biométricas analisadas em bagas de physalis, nomeadamente diâmetro, volume, área de superfície, massa e massa específica.

**Tabela 6:** Características biométricas avaliadas em physalis (valor médio±desvio padrão).

Diâmetro (cm)	Área de Superfície (cm <sup>2</sup> )	Volume (cm <sup>3</sup> )	Massa (g)	Massa Específica (g/cm <sup>3</sup> )
1,69±0,16	8,98±1,28	2,51±0,59	2,77±0,67	1,10±0,04

Pode ser observado que o resultado obtido para o diâmetro foi de 1,69±0,16 cm, encontrando-se dentro do esperado para este fruto, já que segundo os autores Puente et al. (2011), Luchese et al. (2015) e Lima et al. (2009) o diâmetro das bagas pode variar entre 1,25 e 2,50 cm, e ainda que, de acordo com Vasco et al. (2008), o diâmetro das bagas pode variar numa gama ligeiramente mais abrangente: entre 1,0 e 2,5 cm.

O resultado obtido para a área de superfície foi de 8,98±1,28 cm<sup>2</sup>, e para o volume das bagas foi de 2,51±0,59 cm<sup>3</sup>, não podendo ser comparados, uma vez que não foram encontradas informações reportadas na bibliografia que possam suportar essa comparação.

O resultado obtido para a massa dos frutos foi de 2,77±0,67 g. De acordo com os autores Ramadan (2011), Puente et al. (2011), Luchese et al. (2015) e Lima et al. (2009) a massa das bagas pode variar entre 4 a 10 g, situando-se assim os resultados observados no presente trabalho abaixo dos valores referenciados. De acordo com Licodiedoff (2012) esta variação pode dever-se ao estado de maturação das bagas recolhidas, às condições de clima e solo da região onde as bagas foram produzidas e ao estado de desenvolvimento das bagas. Lima et al. 2012, referencia

também que a massa das bagas é uma característica importante, pois está relacionada linearmente com o grau de amadurecimento e/ou desenvolvimento.

O facto de o peso ser menor pode ser devido ao tamanho das bagas pois apresenta um diâmetro não muito elevado, e pode ser também devido à percentagem de humidade das bagas dos trabalhos efetuados pelos autores poder ser mais elevada, que as deste presente estudo.

A massa específica obtida foi de  $1,10 \pm 0,04 \text{ g/cm}^3$ . Comparando o resultado com o dos autores Puente et al. (2011), verifica-se que o valor é semelhante, apesar de ser apenas ligeiramente superior, uma vez que o resultado obtido pelos autores mencionados foi de  $1,038 \pm 0,0054 \text{ g/cm}^3$ .

### 8.1.2. Cor

Na Tabela 7 expõem-se os resultados médios e o correspondente desvio padrão para as coordenadas cromáticas: as coordenadas cartesianas ( $L^*$ ,  $a^*$  e  $b^*$ ), bem como as coordenadas cilíndricas ( $V$ ,  $H^\circ$  e  $C^*$ ).

**Tabela 7:** Coordenadas cromáticas de physalis (valor médio $\pm$ desvio padrão)

Coordenadas Cartesianas			Coordenadas Cilíndricas		
$L^*$ (D65)	$a^*$ (D65)	$b^*$ (D65)	Valor	Ângulo de Matiz ( $h^\circ$ )	Croma ( $C^*$ )
$65,72 \pm 3,13$	$16,69 \pm 2,70$	$58,11 \pm 3,21$	$6,50 \pm 0,74$	$73,95 \pm 2,57$	$60,64 \pm 3,19$

Para a coordenada  $L^*$ , o resultado obtido foi de  $65,72 \pm 3,13$ , concluindo-se que as bagas são claras, pois o valor é mais próximo de 100 (branco) do que de 0 (preto). Comparando com os resultados obtidos por Puente et al. (2011) pode dizer-se que as bagas analisadas neste estudo são mais escuras do que as utilizadas pelos autores referidos, visto que os resultados destes variam entre  $70,31 \pm 0,39$  e  $71,37 \pm 1,10$ . Esta diferença está relacionada com o estado de maturação dos frutos, que tendem a ficar mais escuros à medida que vão amadurecendo.

Para a coordenada  $a^*$  o resultado obtido foi de  $16,69 \pm 2,70$ . A esta coordenada corresponde a cor vermelha quando positiva, como no presente caso. Segundo os autores Puente et al. (2011), os resultados para esta coordenada

variam entre  $14,31 \pm 1,28$  e  $15,20 \pm 0,48$  e os autores Lima et al. (2009), referem 12,35. Os resultados obtidos neste estudo são superiores aos resultados dos autores, podendo dizer-se que as bagas avaliadas neste trabalho têm uma tendência mais acentuada para a coloração vermelha (valores positivos). De acordo com Puente et al. (2011) pode ocorrer devido ao fruto se encontrar num estado de maturação mais avançado e/ou de uma maior concentração de componentes bioativos, como sejam por exemplo os carotenoides ou antocianinas.

O resultado para a coordenada  $b^*$  foi  $57,94 \pm 3,60$ , e como os valores são positivos para esta coordenada é indicativo de se encontrar no espectro da cor amarela. Os resultados apresentados por Puente et al. (2011), referem que para esta coordenada os valores variam entre  $60,84 \pm 3,10$  e  $61,76 \pm 1,34$ . Assim observou-se que as bagas no presente trabalho têm tendência para uma cor amarelada, embora ligeiramente menos acentuada do que o reportado na literatura.

O resultado obtido para o croma foi de  $60,64 \pm 3,19$ , sendo ligeiramente inferior aos resultados descritos pelos autores Puente et al. (2011), e que se encontram entre  $63,61 \pm 1,40$  e  $62,50 \pm 3,26$ .

Para o ângulo de matiz foi obtido um resultado de  $73,95 \pm 2,57^\circ$ , o que mais uma vez é ligeiramente inferior aos valores encontrados por Puente et al. (2011) uma vez que estes variam entre  $76,77 \pm 0,57^\circ$ - $76,20 \pm 0,26^\circ$ . Como se encontra perto do  $90^\circ$ , este valor corresponde à cor amarela, e pode portanto afirmar-se que as bagas têm uma intensidade amarela elevada.

O resultado obtido para o “valor” foi de  $6,50 \pm 0,74$ . Este valor encontra-se um pouco abaixo dos valores referidos na bibliografia para esta propriedade em *physalis*, nomeadamente:  $7,03 \pm 0,04$ - $7,14 \pm 0,11$  (Puente et al., 2011).

De acordo com Maro (2011), as *physalis* mais coloridas podem apresentar quantidades relevantes de compostos bioativos.

De acordo com Lima et al. (2012) as diferenças encontradas nas coordenadas de cor podem ocorrer devido a diferentes estádios de maturação das bagas a quando a colheita, procedimentos de cultivo e às práticas pós-colheita.

### 8.1.3. Textura

A firmeza da pele reflete a integridade do tecido do pericarpo. O resultado obtido para esta variável nas bagas de *physalis* estudadas foi de  $2,40 \pm 0,53$  N. Segundo os autores Trinchero et al. (1999), o resultado para a firmeza das bagas foi de  $3,42 \pm 0,32$  N. Por conseguinte, o valor obtido na presente pesquisa é menor do que o referido pelos autores citados. Segundo Lima et al. 2012, a firmeza é o melhor indicador prático da maturação das bagas, pois esta avaliação determina os níveis ótimos para o consumo, o transporte e o manuseamento. As diferenças encontradas podem verificar-se devido ao facto de a resistência mecânica da fratura e a força de firmeza das bagas diminuir durante o tempo de pós-colheita, sendo influenciadas, essencialmente pelo processo de maturação e de amolecimento do fruto, pelas práticas pós-colheita, pelo estado de maturação das bagas aquando a sua colheita, práticas culturais e pelas práticas laboratoriais aquando a elaboração do estudo.

Quanto à elasticidade o valor obtido foi de  $2,94 \pm 0,54$  mm, e não foi possível encontrar informações bibliográficas para comparação relativamente a esta propriedade de textura.

## 8.2. Caracterização Química

Na Tabela 8 encontram-se os resultados médios e o correspondente desvio padrão para as seguintes propriedades químicas: humidade, fibra, açúcares totais, açúcares redutores, acidez total titulável, teor em sólidos solúveis ( $^{\circ}$ Brix), índice de maturação, teor em ácido ascórbico e carotenoides.

Pode observar-se que o resultado obtido para a humidade foi de  $83,02 \pm 0,94$  g/100 g, concluindo as bagas têm uma elevada percentagem de humidade. Este valor encontra-se dentro dos valores referidos na bibliografia também expressos em g/100 g de massa fresca para a humidade em *physalis*, nomeadamente: 76,9-85,9 (Puente, et al., 2011), 85,9 (Cedeño et al., 2004), 82,16 (Licodiedoff, 2012), 79,8 (Carrasco et al., 2008) e 76,9-85,5 (Moraes, 2013).

O resultado obtido para a fibra foi de  $4,61 \pm 0,60$  g/100 g, encontrando-se dentro dos valores referidos na bibliografia para o teor de fibra na *physalis*, nomeadamente: 4,9 (Ramadan, 2011), 3,6-4,9 (Puente et al., 2011), 3,6 (Carrasco et

al., 2008) e 4,8-4,9 (Moraes, 2013), todos expressos em g/100 g. A variação dos valores pode estar relacionada com o estado de maturação e o estado de desenvolvimento das bagas estudadas.

**Tabela 8:** Análises químicas realizadas na physalis

Propriedades Químicas	Resultado (Média±desvio padrão)
Humidade (g/100 g)	83,02±0,94
Fibra (g/100 g)	4,61±0,60
Açúcares Totais (g/100 g)	8,79±0,63
Açúcares Redutores (g/100 g)	8,03±0,50
Acidez Total Titulável (% de ácido cítrico)	1,25±0,03
Sólidos Solúveis Totais (°Brix)	13,60±0,34
Índice de Maturação (SST/ATT)	10,92±0,30
Ácido Ascórbico (mg AA/100 g)	26,7±2,12
Carotenoides (µg/g)	5,95±1,23

O teor de açúcares totais foi de 8,79±0,63 g/100 g e para os açúcares redutores de 8,03±0,50 g/100 g. Assim, a grande maioria dos açúcares presentes são açúcares redutores, as quais possuem grupos capazes de se oxidarem e entrarem em reações bioquímicas.

Os carotenoides são um grupo de pigmentos que possuem coloração entre o amarelo e o vermelho, e que podem ser encontrados na physalis. O resultado obtido neste estudo para a concentração de carotenoides foi de 5,95±1,23 µg/g, este resultado encontra-se acima do valor (3,99 µg/g) descrito por Oliveira et al. 2011 para a variedade *Physalis angulata* L.

Verifica-se que para a acidez total titulável o resultado obtido foi de 1,25±0,03 %, expresso em ácido cítrico. Este valor encontra-se dentro dos valores referidos na bibliografia para a acidez total titulável em physalis (expressos também em % de

ácido cítrico), nomeadamente:  $1,90\pm 0,26$ - $2,10\pm 0,26$  (Puente et al., 2011), 0,69 (Lima et al., 2009),  $1,54\pm 0,02$  (Licodiedoff, 2012) e 1,83 (Carrasco, 2008). Existem diferenças entre os resultados encontrados, Lima et al. (2009) refere que estas podem estar relacionadas com o estado de maturação das bagas na altura da colheita e estado de conservação pós-colheita, visto que a acidez titulável decresce com o avanço do processo de maturação, em virtude do consumo dos ácidos orgânicos como substrato durante a respiração.

O resultado obtido para o teor em sólidos solúveis totais foi de  $13,6\pm 0,335$  °Brix. Este valor está próximo dos  $12,1 \pm 1,3$  a  $14,30\pm 0,80$  °Brix obtidos por vários autores para a physalis (Puente et al., 2011; Luchese et al., 2015; Lima et al., 2009; Licodiedoff, 2012; Carrasco et al., 2008). Segundo o CODEX (2005) as bagas de physalis têm de apresentar no mínimo 14 °Brix para poderem ser comercializadas, pelo que as bagas estudadas neste trabalho não correspondem a essa exigência, e por isso não poderiam destinar-se à comercialização. Este resultado poderá indicar que as physalis ainda não estavam na fase de maturação correta para a colheita.

O índice de maturação, que representa a razão entre o teor de sólidos solúveis e a acidez total titulável, dá indicação sobre o estado de maturação do fruto (Lima et al., 2009). Segundo Licodiedoff (2012), representa o equilíbrio entre o teor de açúcares e ácidos, permitindo assim expressar objetivamente a contribuição desses para o sabor da fruta. Para este parâmetro o resultado obtido foi de  $10,92\pm 0,29$ . Este valor é bastante inferior ao 18,73 descrito por Lima et al. (2009) e ligeiramente superior ao 8,1 obtido por Carrasco et al. (2008). Moura (2013) observou que podem ter-se elevados índices de maturação mesmo com um teor de sólidos solúveis baixo nos casos em que a acidez total titulável também seja baixa.

Segundo as normas ICOTEC NTC 4580 (1999), para a comercialização da physalis, a razão entre o teor de sólidos solúveis e a acidez total titulável tem que ser  $\geq 6$ . Assim sendo as bagas, colhidas para o estudo poderiam ser comercializadas tendo em conta este parâmetro, contudo esta variável deve estar associada a outras características de qualidade, como o conteúdo de sólidos solúveis totais, em que o valor mínimo deve ser de 14 °Brix.

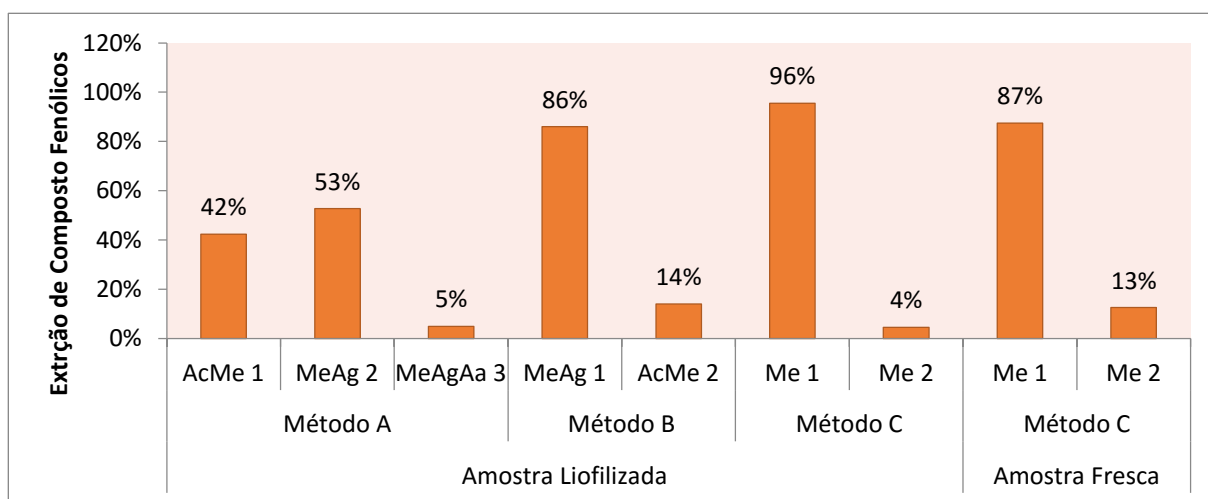
O ácido ascórbico é uma vitamina essencial na dieta humana. Neste trabalho o resultado obtido para o ácido ascórbico foi de  $26,7\pm 2,12$  mg AA/100 g. Este valor encontra-se um pouco abaixo dos valores referidos na bibliografia para o ácido

ascórbico em *physalis*, nomeadamente: 43 (Ramadan, 2011), 20,00-43,00 (Puente et al., 2011), 58-68 (Vasco et al., 2008) e 43,0 (Moraes, 2013), todos expressos em mg AA/100 g. A variação nos resultados pode ser devida às condições de crescimento, estado de maturação aquando a colheita e às práticas pós-colheita das bagas estudadas.

### 8.3. Conteúdo em Compostos Fenólicos

Para a determinação do teor em compostos fenólicos, foram utilizados diferentes extratos. Do Método A resultaram os extratos de acetona:metanol (AcMe1), metanol:água (MeAg2), e metanol:água:ácido acético (MeAgAa3). Do Método B, resultaram os extratos de metanol:água (MeAg1) e acetona:metanol (AcMe2). Por último o método C, deu origem a dois extratos de metanol (Me1 e Me2). Este método foi aplicado à amostra depois de liofilizada e congelada.

Na Figura 23 está representada a percentagem de extração de compostos fenólicos obtida para cada um dos extratos dos diferentes métodos de extração.



**Figura 23:** Percentagem de compostos fenólicos extraídos nos diferentes extratos (Me – Metanol; AcMe – Acetona:Metanol; MeAg – Metanol:Água; MeAgAa – Metanol:Água:Ácido Acético)

Pela análise da figura 23, pode verificar-se que no método A, a segunda solução extratora, metanol:água, foi a que permitiu uma maior extração de compostos fenólicos, com 53% do total obtido. Este resultado fez com que se invertesse a ordem das extrações. Assim o extrato MeAg1 continha 86% do total obtido no método B. os resultados obtidos no método B mostraram que a solução metanol:água era mais eficiente na extração do tipo de compostos presentes na *physalis*, o que permite economia de solvente e de tempo. No entanto, a sequência do método A poderá levar a uma maior separação de compostos fenólicos presentes na *physalis*. No método C verificou-se que também foi na primeira extração que se obteve a maioria dos compostos fenólicos, 96% e 87% do total extraído, respectivamente no caso da mostra liofilizada ou fresca.

Para cada método foram realizadas duas repetições de todos os processos de extração de forma independente, para validação dos resultados. Uma vez que não existem diferenças estatisticamente significativas (teste U Mann Whitney,  $p=0,500$ ), os resultados das 3 análises feitas com base em cada uma das duas amostras foram compilados, permitindo calcular uma média e um desvio padrão com base em 6 observações, valores esses apresentados na Tabela 9.

**Tabela 9:** Teor de compostos fenólicos em diferentes extratos (Me – Metanol; AcMe – Acetona:Metanol; MeAg – Metanol:Água; MeAgAa – Metanol:Água:Ácido Acético)

Amostra	Método de Extração	Extratos	Concentração de compostos fenólicos: Média±Desvio padrão (mg EAG/100 g)	Concentração total de compostos fenólicos (mg EAG/100 g)
Amostra Liofilizada	Método A	AcMe1	25,4±2,9	59,9
		MeAg2	31,6±1,5	
		MeAgAa3	2,9±2,8	
	Método B	MeAg1	46,3±2,3	53,9
		AcMe2	7,5±6,5	
	Método C	Me1	40,8±1,7	42,7
Me2		1,9±0,8		
Amostra Fresca	Método C	Me1	46,8±7,8	53,4
		Me2	6,7±3,3	

Em relação ao método C, verifica-se que não existem diferenças estatisticamente significativas (teste U Mann Whitney,  $p=0,220$ ) no que diz respeito ao teor de compostos fenólicos quando utilizada amostra no estado fresco ou no

estado liofilizado. No caso da amostra fresca observou-se uma maior extração destes compostos, uma média total de 53,4 mg EAG/100 g em comparação com a amostra liofilizada, 42,7 mg EAG/100 g. Estes resultados poderão resultar do facto de que alguns compostos sejam voláteis, os quais se podem ter evaporado juntamente com a água durante o processo de sublimação. Outra possibilidade é a alteração da estrutura das bagas, não permitindo a extração tão eficiente dos compostos fenólicos.

Relativamente às diferentes soluções extratoras, verifica-se que existem diferenças estatisticamente significativas (teste Kruskal Wallis,  $p < 0,001$ ). A solução metanol:água foi a que extraiu uma maior quantidade de compostos fenólicos onde a solução MeAg1 obteve uma média de  $46,3 \pm 2,3$  mg EAG/100 g, seguida da solução MeAg2 com uma média de  $31,6 \pm 1,5$  mg EAG/100 g, seguidamente a solução extratora metanol com amostra liofilizada, onde a solução Me1 obteve uma média de  $40,8 \pm 1,7$  mg EAG/100 g, posteriormente a solução extratora de acetona:metanol, onde a solução AcMe1 extraiu uma média de  $25,4 \pm 2,9$  mg EAG/100 g seguida da solução AcMe2 com uma média de  $7,5 \pm 6,5$  mg EAG/100 g último a que extraiu uma menor quantidade de compostos fenólicos foi a solução extratora metanol:água:ácido acético (MeAgAa3) com uma média de  $2,9 \pm 2,8$  mg EAG/100 g.

A eficiência de uma extração não depende apenas do solvente mas também da ordem de extração, já que com sucessivas extrações vai havendo cada vez menos compostos disponíveis para extrair. De facto, pode verificar-se que existem diferenças estatisticamente significativas (teste Kruskal Wallis,  $p < 0,001$ ) na composição dos diferentes extratos para cada um dos métodos aplicados. Sendo que na primeira houve uma maior extração de compostos fenólicos do que nas seguintes, sendo a terceira a que apresenta menor quantidade de compostos fenólicos extraídos, isto no caso dos métodos em que foram realizadas três extrações.

Comparando os resultados obtidos para os primeiros extratos do métodos B e C, verifica-se que a mistura metanol:água foi mais eficiente na extração dos compostos fenólicos comparativamente ao metanol.

Comparando o teor total de compostos fenólicos (correspondente à soma dos teores quantificados nos diferentes extratos) obtido por todos os métodos utilizados, verificou-se que o método A apresentou uma maior quantidade de compostos

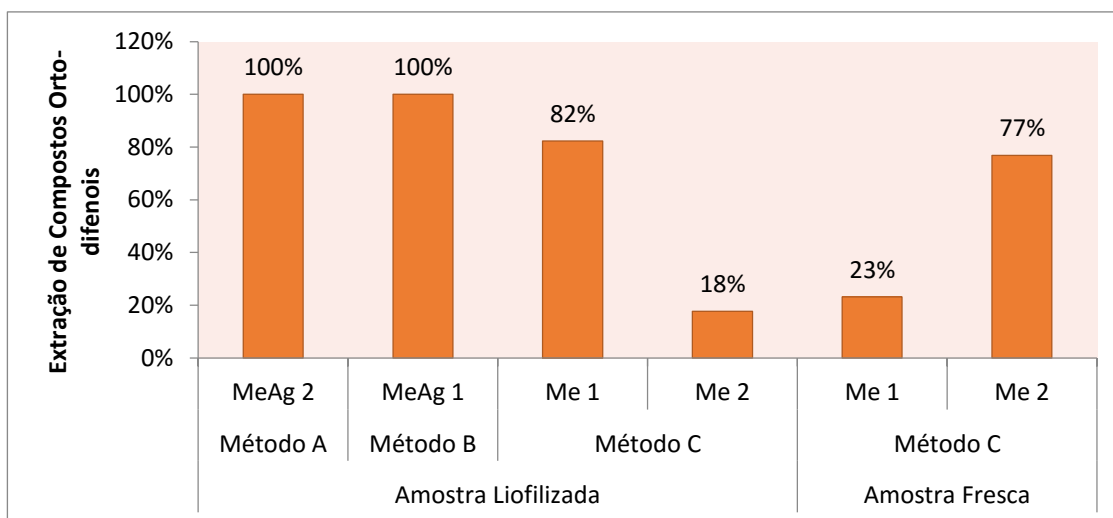
fenólicos, com uma média de 59,9 mg EAG/100 g, seguido do método B, que extraiu uma média de 53,9 mg EAG/100 g e por último o método C utilizando a amostra liofilizada, extraiu uma menor quantidade, com uma média total de 42,7 mg EAG/100 g. Contudo é de salientar que estas diferenças não são estatisticamente significativas (teste Kruskal Wallis,  $p=0,381$ ). Verifica-se assim que o método A foi o mais eficiente.

Os teores de compostos fenólicos encontrados neste estudo encontram-se superiores aos indicados por Rockenbach et al., (2008) para o maracujá e abacaxi (20,0; 21,7 mg EAG/100 g respetivamente). Sendo inferiores aos presentes na uva, morango e manga (117,1; 132,1; 544,9 mg EAG/100 g respetivamente)

Os teores em compostos fenólicos quantificados neste trabalho encontram-se dentro dos valores referidos na bibliografia para *physalis* (expressos em mg EAG/100 g de amostra fresca), nomeadamente:  $40,45 \pm 0,93$  (Puente et al., 2011),  $57,9 \pm 0,6$  (Rockenbach et al., 2008) e  $47,8 \pm 1,8$  mg (Rockenbach, et al., 2008). A diferença dos resultados pode ser consequência do clima e do solo onde os arbustos de *physalis* foram plantados, à variedade, ao estado de maturação das bagas na altura da colheita, às condições pós-colheita, o próprio método de extração utilizado e as práticas laboratoriais utilizadas. Segundo Puente et al. (2011), estes resultados podem mudar durante o armazenamento devido à degradação da vitamina C e dos compostos fenólicos.

#### **8.4. Conteúdo em Orto-Difenóis**

Para a quantificação dos orto-difenóis foram utilizados os mesmos extratos preparados para a quantificação dos compostos fenólicos. Na Figura 24 está representada a percentagem de extração de orto-difenóis, obtida para cada um dos extratos dos diferentes métodos de extração, verificando-se que nos métodos A e B 100% do total dos orto-difenóis foram obtidos utilizando a solução extratora de metanol:água, independentemente de ser a 1ª ou a 2ª extração realizadas. No método C, pode observar-se que quando foi utilizada a amostra liofilizada ocorreu a maior extração destes compostos na primeira extração, com cerca de 82% do total extraído. No entanto, no mesmo método quando se utilizou a amostra fresca, verificou-se que se extraíram cerca de 77% do total, mas na segunda extração.



**Figura 24:** Percentagem de orto-difenóis extraídos nos diferentes extratos (Me – Metanol; MeAg – Metanol:Água)

Como descrito anteriormente, para cada método foram realizadas duas repetições independentes de todos os processos de extração e, uma vez que não existem diferenças estatisticamente significativas entre os teores em orto-difenóis quantificados nas duas repetições (teste U Mann Whitney,  $p=0,323$ ), os resultados das diferentes análises feitas com base em cada uma das duas amostras, foram utilizados para calcular a média e o desvio padrão com base nas 6 observações, valores esses apresentados na tabela 10.

**Tabela 10:** Teor em orto-difenóis nos diferentes extratos (Me – Metanol; MeAg – Metanol:Água;)

Amostra	Método de Extração	Extratos	Concentração de orto-difenóis: Média±Desvio padrão (mg EAG/100 g)	Concentração total de orto-difenóis (mg EAG/100 g)
Amostra Liofilizada	Método A	MeAg2	14,1±1,9	14,1
	Método B	MeAg1	27,5±2,8	27,5
	Método C	Me1	77,9±12,5	94,6
		Me2	16,7±0,9	
Amostra Fresca	Método C	Me1	21,0±8,1	90,9
		Me2	69,8±10,6	

Os resultados apresentados na figura 24 e na tabela 10 mostram que no método A e no método B apenas houve extração com a solução metanol:água

independentemente da ordem em que esta solução foi utilizada como solução extratora. Efetivamente estes compostos não puderam ser quantificados com as outras soluções (acetona:metanol e metanol:água:ácido acético), pois ocorreu precipitação quando estas entraram em contacto com o molibdato de sódio, podendo esta reação ter ocorrido devido a algum composto existente nos extratos reagir com este reagente. No método A, foram extraídos em média 14,1 mg EAG/100 g e por sua vez no método B, obteve-se uma média de 27,5 mg EAG/100 g. Estes resultados mostram que utilizando a mesma solução extratora, a quantidade de compostos recuperados é diferente dependendo da ordem, já que quando é utilizada primeiro existe uma maior extração dos orto-difenóis.

No que respeita ao método C, verificou-se uma maior extração a partir da amostra liofilizada, uma média total de 94,6 mg de EAG/100 g. Quando utilizada amostra fresca, existe uma média de 90,9 mg EAG/100 g. Porém, estas diferenças não são estatisticamente significativas (teste U Mann Whitney,  $p=0,280$ ).

Relativamente às soluções extratoras utilizadas, encontraram-se diferenças estatisticamente significativas (teste Kruskal Wallis,  $p=0,015$ ), sendo que o metanol foi a solução que extraiu uma maior quantidade de orto-difenóis, onde a solução Me1 obteve uma média de  $77,9\pm 12,5$  mg EAG/100 g e a solução metanol:água extraiu uma menor quantidade deste tipo de compostos, onde a solução MeAg1 obteve uma média de  $27,5\pm 2,8$  mg EAG/100 g seguida da solução MeAg2 que obteve uma média de  $14,1\pm 1,9$  mg EAG/100 g.

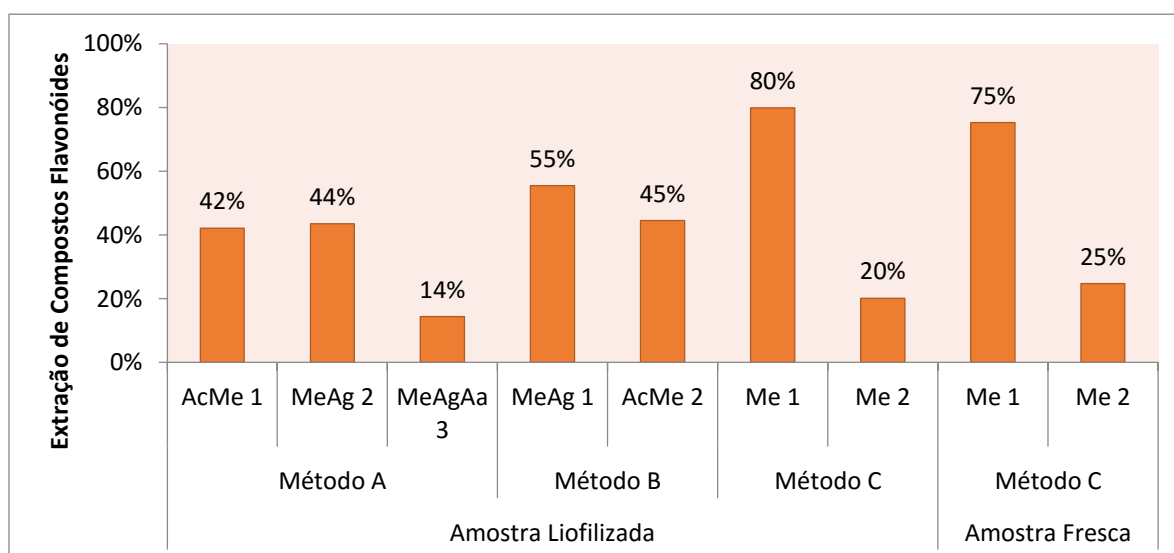
Observa-se que não existiram diferenças estatisticamente significativas (teste Kruskal Wallis,  $p=0,103$ ) no que diz respeito à ordem em que são utilizadas as diferentes soluções extratoras.

Comparando todos os métodos utilizados pode verificar-se que existiram diferenças significativas (teste Kruskal Wallis,  $p=0,003$ ) no teor total em orto-difenóis (obtido pela soma dos teores quantificados nos diferentes extratos). O método C foi o que extraiu uma maior quantidade de compostos com uma média total de 94,6 mg EAG/100 g, seguidamente do método B, com uma média de 27,5 mg EAG/100 g e por último o método A, que extraiu uma menor quantidade, média de 14,1 mg EAG/100 g. Estes resultados demonstram que o método C foi o mais eficiente para a extração deste tipo de compostos, com apenas duas extrações, permitindo assim poupar tempo e reagentes.

Em virtude de não terem sido encontradas informações na literatura científica relativas aos teores de orto-difenóis quantificados em *physalis*, não foi possível verificar se os valores encontrados neste caso eram comparáveis aos de outros trabalhos.

## 8.5. Conteúdo em Flavonóides

Para a determinação dos flavonóides, foram utilizados os mesmos extratos anteriormente descritos. Na Figura 25 está representada a percentagem de extração de flavonóides, obtida para cada um dos extratos dos diferentes métodos de extração.



**Figura 25:** Percentagem de flavonóides extraídos nos diferentes extratos (Me – Metanol; AcMe – Acetona:Metanol; MeAg – Metanol:Água; MeAgAa – Metanol:Água:Ácido Acético)

Os resultados na figura 25 permitem verificar que no método A houve uma extração muito semelhante quando utilizadas as duas soluções: 42% e 44% do total extraído para as soluções acetona:metanol e metanol:água, respetivamente, sendo que a terceira extração (com metanol:água:ácido acético) representou uma pequena fração, apenas 14%. Em comparação, no método B a solução metanol:água utilizada em primeiro lugar permitiu obter 55% dos flavonóides, o que leva a crer que a mesma solução utilizada em diferentes fases produz resultados diferentes. Relativamente ao método C verifica-se que na primeira extração houve uma maior

recuperação dos compostos flavonóides, independentemente do estado físico da amostra, 80% do total extraído na amostra liofilizada e 75% do total extraído na amostra fresca.

Para cada método foram, como referido, realizadas dois procedimentos de extração de forma independente, e uma vez mais se verificou que não existem diferenças estatisticamente significativas no que toca aos teores de flavonóides (teste U Mann Whitney,  $p=0,052$ ), pelo que os resultados das três análises feitas para cada uma das duas amostras foram juntos para calcular a média e o desvio padrão globais, apresentados na tabela 11.

**Tabela 11:** Teor em compostos flavonóides nos diferentes extratos (Me – Metanol; AcMe – Acetona:Metanol; MeAg – Metanol:Água; MeAgAa – Metanol:Água:Ácido Acético)

Amostra	Método de Extração	Extratos	Concentração de Flavonóides: Média±Desvio padrão (mg EQ/100 g)	Concentração total de flavonóides (mg EQ/100 g)
Amostra Liofilizada	Método A	AcMe1	0,143±0,008	0,340
		MeAg2	0,148±0,009	
		MeAgAa3	0,049±0,007	
	Método B	MeAg1	0,167±0,005	0,301
		AcMe2	0,134±0,060	
	Método C	Me1	0,147±0,006	0,184
Me2		0,037±0,006		
Amostra Fresca	Método C	Me1	0,140±0,012	0,186
		Me2	0,046±0,016	

Verifica-se que não existem diferenças estatisticamente significativas (teste U Mann Whitney,  $p=0,072$ ) nos valores quantificados pelo método C quando foi utilizada a amostra liofilizada ou a amostra fresca. Verifica-se que a quantidade extraída foi muito semelhante, sendo que no extrato que contém amostra liofilizada quantificou-se cerca de 0,184 mg EQ/100 g e por sua vez o extrato que continha a amostra fresca quantificou-se cerca de 0,186 mg EQ/100 g

Pode verificar-se que existem diferenças estatisticamente significativas (teste Kruskal Wallis,  $p < 0,001$ ) no que diz respeito à utilização das diferentes soluções extratoras, a solução metanol:água foi a extraiu uma maior quantidade de flavonoides, onde a solução MeAg1 obteve uma média de 0,167±0,005 mg EQ/100

g, seguida da solução MeAg2 que obteve uma média de  $0,148 \pm 0,009$  mg EQ/100 g, posteriormente a solução acetona:metanol, onde a solução AcMe1 extraiu uma média de  $0,143 \pm 0,008$  mg de EQ/100 g seguida da solução AcMe2 com uma média de  $0,134 \pm 0,060$  mg EQ/100 g, depois a solução extratora metanol com amostra liofilizada, onde a solução Me1 obteve uma média de  $0,147 \pm 0,006$  mg de EQ/100 g e por último a solução que extraiu uma menor quantidade foi a de metanol:água:ácido acético (MeAgAa3), com uma média de  $0,049 \pm 0,007$  mg EQ/100 g. Não foi possível comparar estes resultados com outros obtidos em *physalis*, visto não terem sido encontradas informações na bibliografia sobre quantificação de flavonóides em *physalis*.

Verifica-se também que existiram diferenças estatisticamente significativas (teste Kruskal Wallis,  $p < 0,001$ ) no que diz respeito à ordem em que são utilizadas as diferentes soluções extratoras, sendo a primeira extração superior à segunda, e esta superior à terceira, para os métodos que têm três extrações.

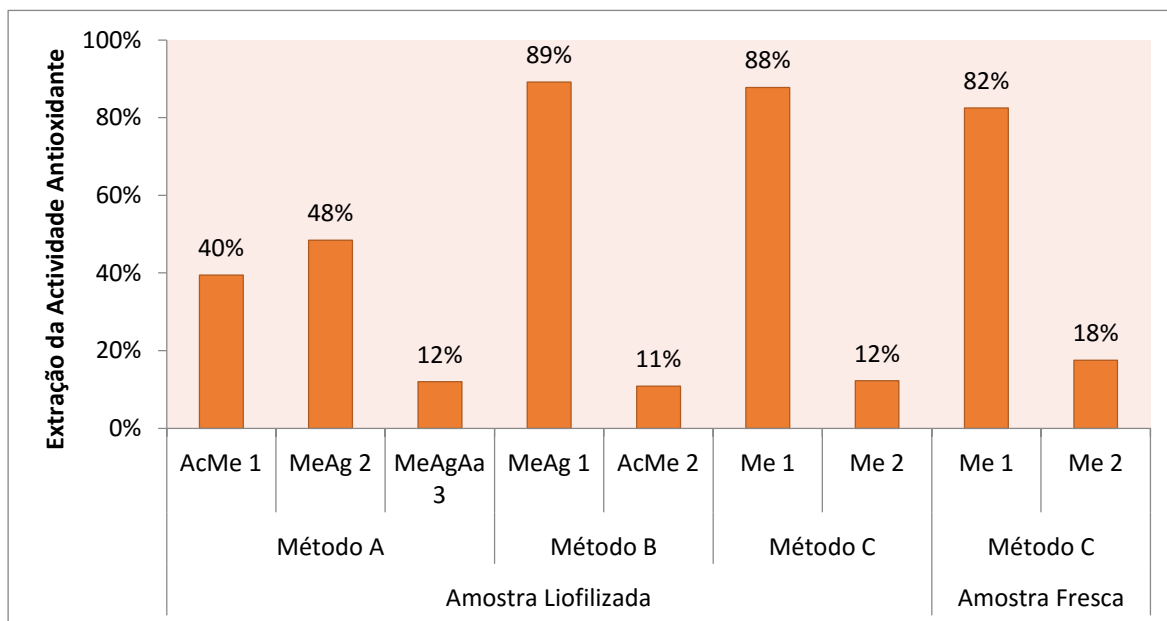
Comparando todos os métodos, verifica-se que existiram diferenças estatisticamente significativas (teste Kruskal Wallis,  $p < 0,001$ ) no teor total de compostos flavonóides (obtido para cada método através da soma dos teores quantificados nos diferentes extratos). Os métodos A e B permitiram extrair uma maior quantidade destes compostos ( $0,301$  mg EQ/100 g, seguido do método A, que extraiu uma média de  $0,340$  mg EQ/100 g) quando comparado com o método C ( $0,184$  mg EQ/100 g). Verificando-se assim que para a extração destes compostos o método B permite poupar tempo e reagentes.

## **8.6. Atividade Antioxidante**

Para a determinação da atividade antioxidante pelos dois métodos utilizados, foram usados os mesmos extratos que foram também utilizados para a quantificação dos compostos fenólicos, orto-difenóis e flavonóides.

### 8.6.1. Atividade antioxidante pelo método DPPH

Na Figura 26 está representada, em percentagem, a atividade antioxidante (AAo) quantificada através do método DPPH, para cada um dos extratos dos diferentes métodos de extração.



**Figura 26:** Percentagem da atividade antioxidante determinada pelo método DPPH nos diferentes extratos (Me – Metanol; AcMe – Acetona:Metanol; MeAg – Metanol:Água; MeAgAa – Metanol:Água:Ácido Acético)

Pela análise da figura 26, pode observar-se que no método A obteve-se uma maior atividade antioxidante no extrato metanol:água, 48% da AAo total. No caso do método B, observa-se que no mesmo tipo de extrato foi quantificada também a maior AAo, 89% do total, muito embora neste caso este extrato tenha sido obtido na primeira extração. Relativamente ao método C, verifica-se que, independentemente do estado da amostra, foi quantificada uma AAo substancialmente maior na primeira extração, 88% e 82% do total quantificado, respetivamente para as amostras liofilizada e fresca.

À semelhança do que se observou anteriormente no que respeita á utilização das duas repetições independente para cada método de extração, também neste não existem diferenças estatisticamente significativas (teste U Mann Whitney,

p=0,749), e uma vez mais os resultados foram reunidos para o cálculo das médias e respectivos desvios padrão apresentados na tabela 12.

**Tabela 12:** Atividade antioxidante determinada pelo método DPPH nos diferentes extratos (Me – Metanol; AcMe – Acetona:Metanol; MeAg – Metanol:Água; MeAgAa – Metanol:Água:Ácido Acético)

Amostra	Método De Extração	Extratos	Atividade antioxidante: Média±Desvio padrão (µmol TE/g)	Atividade antioxidante total (µmol TE/g)
Amostra Liofilizada	Método A	AcMe 1	3,79±0,40	9,61
		MeAg 2	4,66±0,76	
		MeAgAa 3	1,15±0,82	
	Método B	MeAg 1	6,89±0,49	7,73
		AcMe 2	0,84±0,23	
	Método C	Me 1	8,16±0,53	9,30
Me 2		1,14±0,25		
Amostra Fresca	Método C	Me 1	7,24±0,40	8,77
		Me 2	1,54±0,48	

Os resultados obtidos pelo método C permitiram concluir que não existem diferenças estatisticamente significativas na atividade antioxidante quantificada pelo método DPPH (U Mann Whitney, p=0,344) quanto à utilização de amostra fresca ou liofilizada. Com a utilização da amostra liofilizada verifica-se que existiu uma extração da AAO de 9,30 µmol TE/g sendo esta apenas ligeiramente superior à média da AAO obtida quando utilizada a amostra fresca, 8,77 µmol TE/g..

Relativamente à AAO quantificada nos diferentes extratos, verifica-se que existem diferenças estatisticamente significativas (teste Kruskal Wallis, p <0,001), sendo a solução metanol:água aquela onde foi quantificada maior AAO, onde a solução MeAg1 obteve uma média de 6,89±0,49 µmol TE/g seguida da solução MeAg2 que obteve uma média de 4,66±0,76 µmol TE/g, posteriormente pela solução extratora acetona:metanol, onde a solução AcMe1 extraiu uma média de 3,79±0,40 µmol TE/g seguida da solução AcMe2 com uma média de 0,84±0,23 µmol TE/g, e pela solução metanol, onde a solução Me1 obteve uma média de 8,16±0,53 µmol TE/g. Por último a solução metanol:água:ácido acético (MeAgAa3) foi a que obteve um menor valor de AAO, com uma média de 1,154±0,82 µmol TE/g.

No que diz respeito à ordem dos extratos, existem diferenças estatisticamente significativas (teste Kruskal Wallis,  $p < 0,001$ ), sendo que é no primeiro extrato que se encontra maior AA, seguida pelo segundo extrato e depois pelo terceiro, quando aplicável.

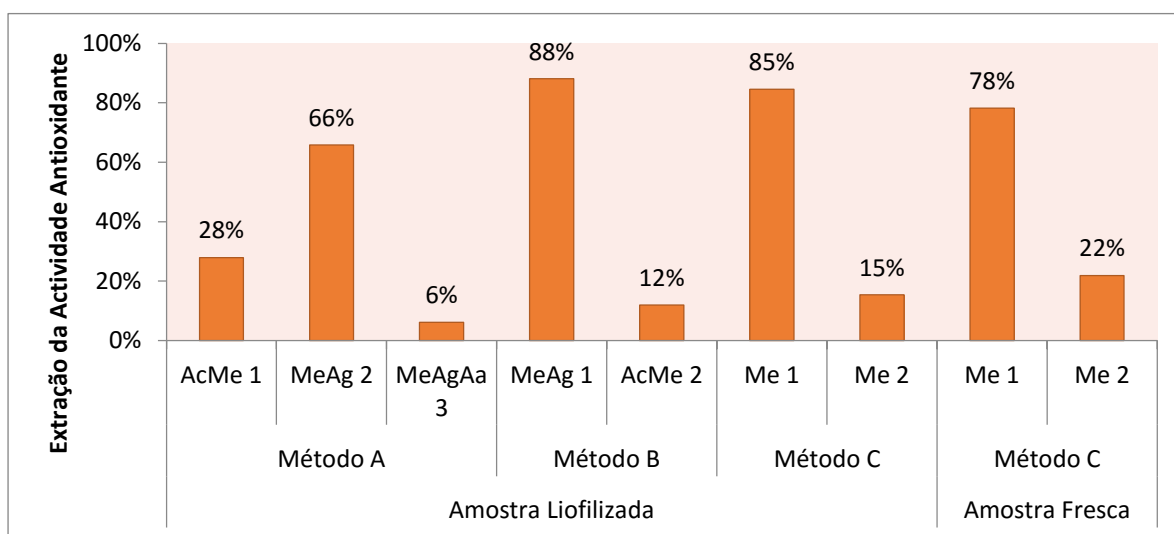
Na comparação dos métodos de extração, verificou-se que não existem diferenças estatisticamente significativas (teste Kruskal Wallis  $p=0,151$ ) na atividade antioxidante total, obtida pela soma dos valores da AAo quantificados nos diferentes extratos. Ainda assim, observa-se que o método A foi o que permitiu obter valores maiores de AAo, com uma média de  $9,61 \mu\text{mol TE/g}$ , seguido do método C, com uma média de  $9,30 \mu\text{mol TE/g}$ , e por fim do método B, a que corresponde uma média de  $7,73 \mu\text{mol TE/g}$ .

Os teores de atividade antioxidante encontrados neste estudo encontram-se superiores aos indicados por Rockenbach et al., (2008) para o maracujá e abacaxi ( $0,9$ ;  $0,5 \mu\text{mol TE/g}$  de amostra fresca, respetivamente). Encontrando-se próximos aos presentes na uva, morango e manga ( $7,0$ ;  $9,2$ ;  $12,9 \mu\text{mol TE/g}$  de amostra fresca respetivamente)

Os valores da AAo determinados neste trabalho revelam-se superiores aos valores referidos na bibliografia para a atividade antioxidante quando determinada pelo mesmo método em *physalis*. Vasco, et al., (2008) reportaram um valor de AAo de  $0,7$  e Puente et al., (2011) apresentam valores  $2,11$  e  $1,92$ , todos expressos em  $\mu\text{mol TE/g}$  de amostra fresca. Vega-Gálvez et al., (2014) apresentam um valor de AAo de  $94,07 \mu\text{mol TE}/100 \text{ g}$  de matéria seca, o que corresponde a  $0,20 \mu\text{mol TE/g}$  de amostra fresca (com  $78,61\%$  de humidade). As variações existentes podem ser causadas pelas condições de clima e solo onde os arbustos de *physalis* se encontram plantados, práticas pós colheita, práticas laboratoriais utilizadas, já que, de acordo com Lima et al. (2012), os valores da capacidade antioxidante dos vegetais são amplamente influenciados por fatores genéticos, condições ambientais, grau de maturação das bagas no momento da colheita, variedade da planta, pelo solvente e a técnica de extração utilizada.

### 8.6.2. Atividade Antioxidante pelo método ABTS

A percentagem de atividade antioxidante, determinada através do método ABTS, obtida para cada um dos extratos dos diferentes métodos de extração, está apresentada na figura 27. Os resultados mostram que há uma tendência para os resultados da AAO pelo método ABTS serem muito semelhantes aos obtidos pelo método DPPH.



**Figura 27:** Percentagem de atividade antioxidante determinada pelo método ABTS nos diferentes extratos (Me – Metanol; AcMe – Acetona:Metanol; MeAg – Metanol:Água; MeAgAa – Metanol:Água:Ácido Acético)

No método A quantificou-se maior AAO com a solução extratora metanol:água, 66%, tal como no método B, 88%, apesar da ordem em que foi utilizada a solução tenha sido diferente. Confirma-se também que no método C a primeira extração foi a que apresentou maior AAO, com 85% e 78% respetivamente, quer a amostra tenha sido liofilizada ou fresca.

No que respeita às repetições feitas, uma vez mais não existem diferenças estatisticamente significativas (teste U Mann Whitney,  $p=0,829$ ), sendo que os resultados considerando as 6 observações são apresentados na tabela 13.

**Tabela 13:** Resultados médios e respetivo desvio padrão da atividade antioxidante pelo método ABTS em diferentes extratos (Me – Metanol; AcMe – Acetona:Metanol; MeAg – Metanol:Água; MeAgAa – Metanol:Água:Ácido Acético)

Amostra	Método de Extração	Extratos	Atividade antioxidante: Média±Desvio padrão (µmol TE/g)	Atividade antioxidante total (µmol TE/g)
Amostra Liofilizada	Método A	AcMe 1	3,65±0,23	13,07
		MeAg 2	8,61±1,35	
		MeAgAa 3	0,81±0,09	
	Método B	MeAg 1	10,90±1,35	12,38
		AcMe 2	1,48±0,62	
	Método C	Me 1	10,39±1,28	12,28
Me 2		1,90±0,43		
Amostra Fresca	Método C	Me 1	10,71±0,98	13,71
		Me 2	2,99±0,50	

Tendo em conta os resultados obtidos pelo método C, pode observar-se que na amostra fresca foi ligeiramente maior a AAO (13,71 µmol TE/g), que com a utilização da amostra liofilizada (12,28 µmol TE/g). Ainda assim, estas diferenças não são estatisticamente significativas (teste U Mann Whitney, p=0,077)

No que concerne aos diferentes extratos, foram observadas diferenças estatisticamente significativas (teste Kruskal Wallis, p <0,001), sendo a solução metanol:água aquela onde foi quantificada maior AAO, onde a solução MeAg1 obteve uma média de 10,90±1,35 µmol TE/g seguida da solução MeAg2 que obteve uma média de 8,61±1,35 µmol TE/g. Seguidamente foi a solução de metanol, onde a solução Me1 obteve uma média de 10,39±1,28 µmol TE/g, posteriormente a solução acetona:metanol, onde a solução AcMe1 extraiu uma média de 3,65±0,23 µmol TE/g seguida da solução AcMe2 com uma média de 1,478±0,62 µmol TE/g e por último a solução metanol:água:ácido acético (MeAgAa3), que foi a que apresentou uma média de AAO inferior, cerca de 0,81±0,09 µmol TE/g.

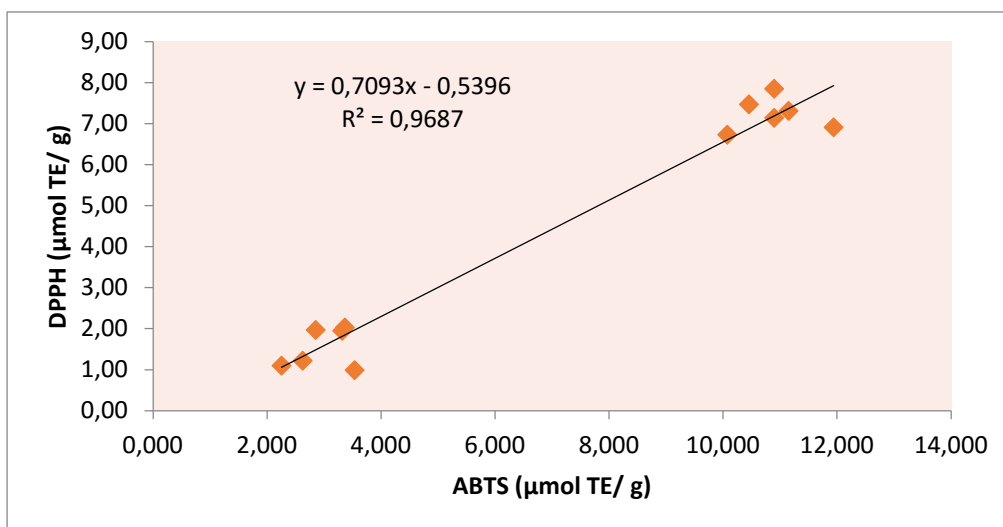
Comparando a ordem pela qual as soluções foram utilizadas, verifica-se que existiram diferenças estatisticamente significativas nos valores de AAO quantificados pelo método ABTS (teste Kruskal Wallis, p <0,001), de tal forma que o primeiro extrato foi o que apresentou maior AAO, e seguindo a mesma tendência descrita anteriormente para o método DPPH.

Comparando todos os métodos, e considerando a amostra liofilizada, o que permitiu obter uma maior AAO foi o método A, com 13,07  $\mu\text{mol TE/g}$ , seguido do método C, em que a média total de 12,28  $\mu\text{mol TE/g}$ , e por último o método B, com uma menor AAO, 12,38  $\mu\text{mol TE/g}$ . Contudo, verificou-se que não existem diferenças estatisticamente significativas (teste Kruskal Wallis,  $p=0,174$ ) na utilização dos diferentes métodos, pelo que estas diferenças observadas não são relevantes

Os valores de AAO observados no presente estudo são superiores aos valores referidos na bibliografia para o método ABTS em *physalis* (expressos em  $\mu\text{mol TE/g}$  de amostra fresca), nomeadamente: 7,88 a 8,07 (Licodiedoff, 2012), 1,45 (Lima et al., 2012) e 9 (Vasco et al., 2008). As razões para as diferenças observadas são as mesmas apresentadas quando foi analisada a AAO pelo método DPPH.

### **8.7. Análise global dos resultados**

Na Figura 28 está representada a relação entre os valores da capacidade antioxidante da *physalis* obtidos pelos dois métodos experimentais utilizados (ABTS e DPPH). Os dados são bem descritos por uma função linear, já que o coeficiente de correlação é elevado, indicando uma correlação forte entre as duas variáveis representadas ( $r^2=0,9687$ ). Assim, os resultados obtidos pelos dois métodos, embora numericamente diferentes apresentam uma forte ligação entre si.



**Figura 28:** Relação entre a capacidade antioxidante da physalis fresca utilizando os métodos ABTS e DPPH (Ajuste por correlação linear com método dos mínimos quadrados)

A capacidade antioxidante de um alimento é devido à presença de diferentes compostos com atividade antioxidante, entre os quais os compostos fenólicos, carotenoides ou ácido ascórbico. Uma vez que neste trabalho foram avaliados os teores em compostos fenólicos totais, carotenoides e ácido ascórbico na physalis, interessa perceber até que ponto estes compostos contribuem para a sua AAO. Nesta medida, foram avaliadas as relações entre a atividade antioxidante determinada pelos dois métodos (ABTS e DPPH) com o teor em compostos fenólicos, com o conteúdo em ácido ascórbico e ainda com os carotenoides, sendo os coeficientes de correlação apresentados na Tabela 14. Os resultados obtidos mostram que há uma correlação forte positiva entre o teor de compostos fenólicos e o DPPH ( $r^2=0,9687$ ) bem como com o ABTS ( $r^2=0,9329$ ). Encontrou-se ainda uma correlação forte entre o ácido ascórbico e a AAO pelos dois métodos ( $r^2=0,8642$  e  $r^2=0,9832$ , respetivamente para o DPPH e o ABTS). No que respeita aos carotenoides, também que existe uma correlação com a AA ( $r^2=0,7857$  e  $r^2=0,7163$ , para os métodos DPPH e ABTS, respetivamente). Desta forma, os resultados indicam que as propriedades antioxidantes da physalis se devem, em grande parte, à presença de compostos fenólicos, ao ácido ascórbico e aos carotenoides.

**Tabela 14:** Coeficientes de correlação entre a atividade antioxidante e os compostos fenólicos, ácido ascórbico e carotenoides

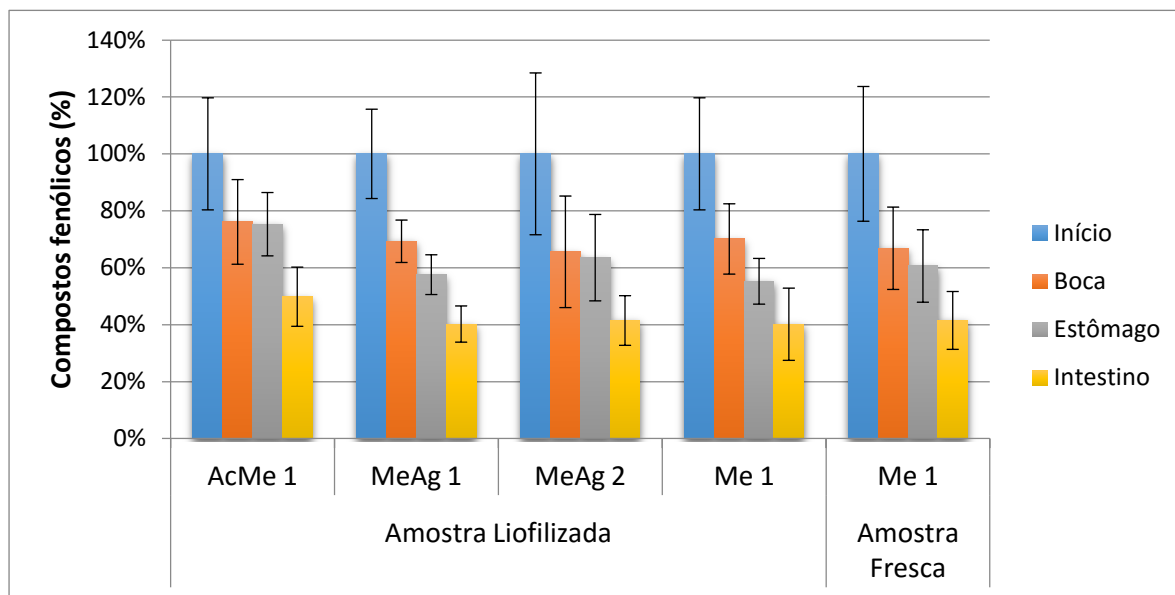
Compostos	Atividade Antioxidante	
	DPPH	ABTS
Compostos Fenólicos Totais	0,9374	0,9329
Ácido Ascórbico	0,8642	0,9832
Carotenoides	0,7857	0,7163

## 8.8. Avaliação da Bioacessibilidade

### 8.8.1. Avaliação do teor em compostos fenólicos totais

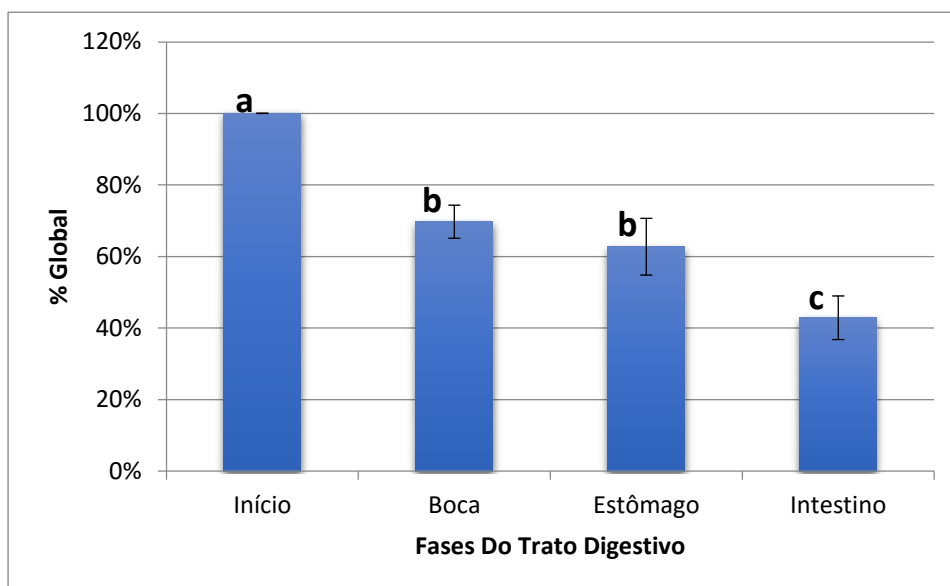
A alteração da composição fenólica ao longo do trato digestivo foi feita considerando condições que simulam *in vitro* a prossecução ao longo do aparelho digestivo. Os resultados obtidos foram expressos em percentagem relativamente às quantidades inicialmente presentes nos diferentes extratos obtidos para a *physalis*, e encontram-se representados na Figura 29. Os resultados mostram que em todos extratos analisados se verifica um decréscimo no conteúdo em compostos fenólicos ao longo do trato intestinal. Essa diminuição é maior ao atravessar a boca (com perdas entre 24% e 34%), sendo que a passagem pelo estômago é aquela que aparentemente produz uma diminuição menos acentuada (perdas entre 1% e 15%).

Comparando os diferentes extratos no que respeita ao efeito global (Figura 29) verifica-se que o extrato AcMe 1 com amostra liofilizada foi o que manteve uma maior percentagem de composto fenólicos no final, sendo que estão disponíveis para absorção no intestino 50% do total inicialmente presente. Em todos os restantes extratos a percentagem em compostos fenólicos que fica disponível no intestino para absorção é menor, apenas cerca de 40% do total inicial. Assim, o extrato acetona:metanol apresenta-se como mais viável para a preservação dos compostos fenólicos ao longo do aparelho digestivo.



**Figura 29:** Percentagem de compostos fenólicos nos diferentes extratos ao longo do trato digestivo (Me – Metanol; AcMe – Acetona: Metanol; MeAg – Metanol: Água; MeAgAa – Metanol: Água: Ácido Acético).

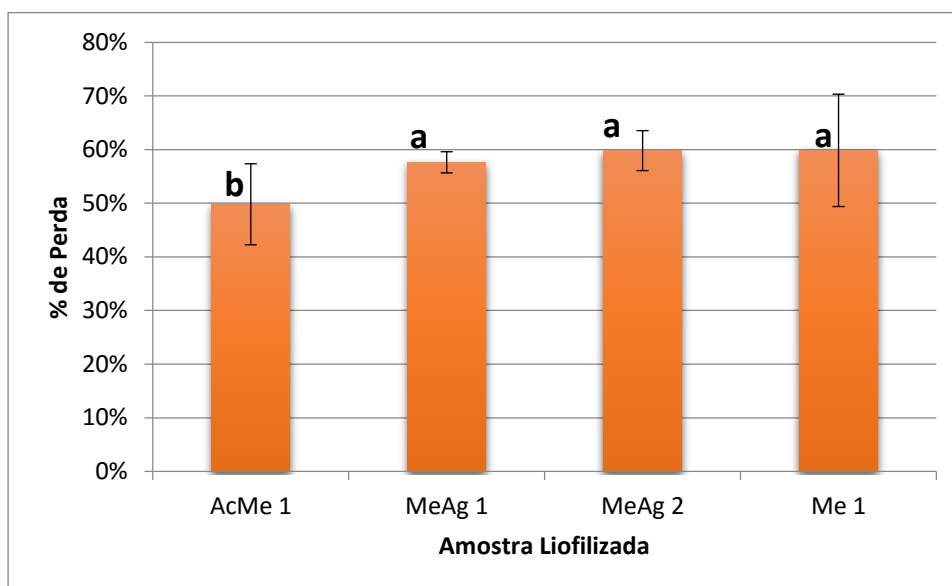
Para averiguar a significância das diferenças nas várias fases ao longo do trato intestinal foi aplicada ANOVA aos resultados, considerando valores médios entre os vários extratos considerados (Figura 30). Os resultados mostram que existem diferenças significativas entre os diferentes estágios considerados ( $F=92,543$ ;  $p=0,000$ ). Verifica-se que o conteúdo em compostos fenólicos vai diminuindo, de  $100\pm 0\%$  no início para  $70\pm 5\%$  ao passar na boca, para  $63\pm 8\%$  ao passar o estômago e para  $43\pm 6\%$  ao atravessar o intestino. Os testes de comparações múltiplas (Post-Hoc) de tukey mostraram que existem diferenças significativas do início para a boca e do estômago para o intestino, porém, as diferenças da boca para o estômago não são significativas.



**Figura 30:** Variação da porcentagem de compostos fenólicos ao longo do trato digestivo (letras diferentes correspondem a amostras estatisticamente diferentes).

Foi ainda realizada uma Anova para comparar as perdas de compostos fenólicos consideradas ao longo de todo o trato intestinal, nos diferentes extratos com amostra liofilizada (Figura 31), e os resultados mostram que existem diferenças significativas ( $F=66,996$ ;  $p=0,033$ ). No extrato AcMe1 verificou-se uma perda total de  $50\pm 8\%$  em compostos fenólicos, no extrato MeAg1 essa perda foi de  $58\pm 2\%$ , no extrato MeAg2 a perda foi de  $60\pm 4\%$ , e no extrato Me1 a perda foi também de  $60\pm 10\%$ . Verifica-se então que o extrato AcMe1 foi o mais eficiente no que diz respeito à manutenção de compostos fenólicos desde o início até que estes estejam disponíveis para a absorção. Os testes de comparação múltipla (Post-Hoc) de Tukey mostram que não existem diferenças significativas entre os extratos MeAg1, MeAg2 e Me1, mas estes diferem do extrato AcMe1.

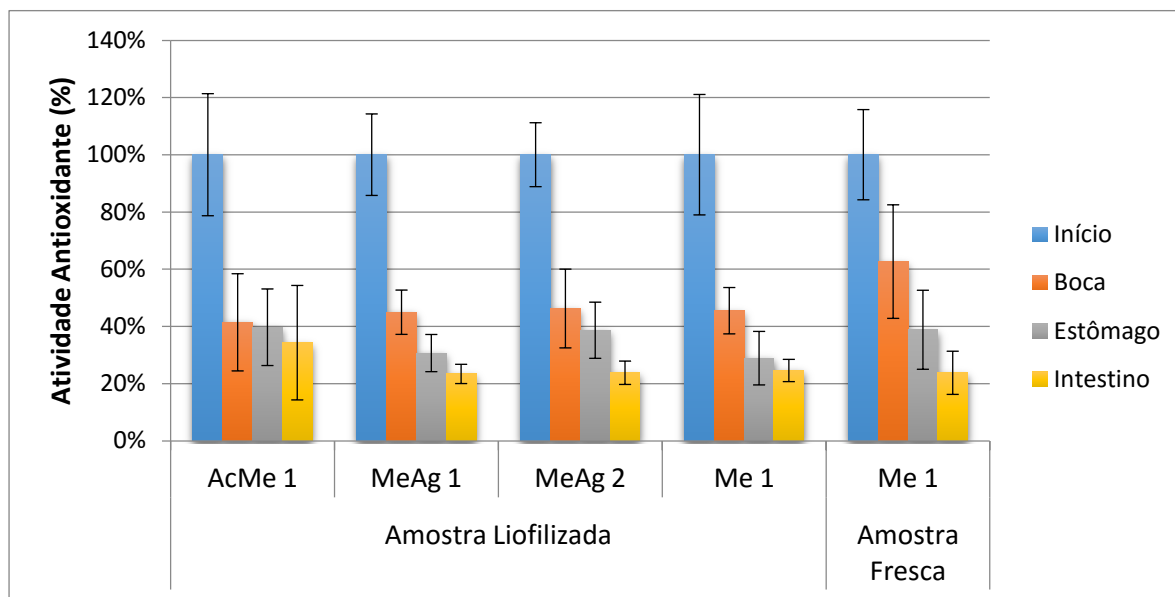
Segundo Vega-Gálvez, et al. (2016), a biodisponibilidade dos compostos fenólicos pode ser afetada pela microestrutura de ligação destes compostos no interior da matriz dos alimentos que está diretamente relacionada com o processamento da fruta.



**Figura 31:** Perdas globais em compostos fenólicos ao longo do trato intestinal considerando diferentes extratos (Me – Metanol; AcMe – Acetona: Metanol; MeAg – Metanol: Água; MeAgAa – Metanol: Água: Ácido Acético) (letras diferentes correspondem a amostras estatisticamente diferentes)

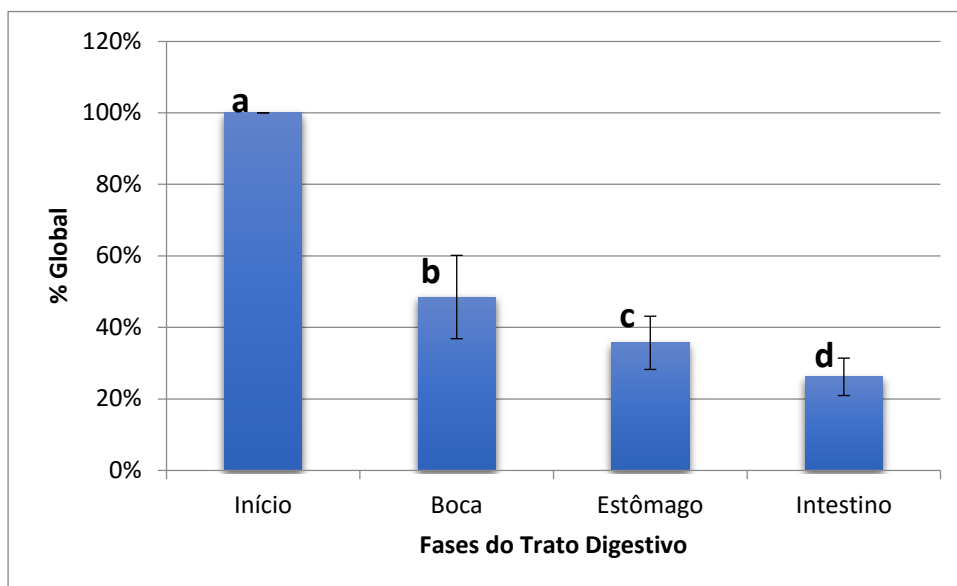
### 8.8.2. Avaliação da atividade antioxidante pelo método ABTS

A alteração da atividade antioxidante ao longo de condições de simulação *in vitro* do trato intestinal, expressa em percentagem, obtida nos diversos extratos, encontra-se representada na Figura 32. Verifica-se que existe um decréscimo da atividade antioxidante ao longo do aparelho digestivo, e este é maior do início para a boca, à semelhança do anteriormente observado para o teor em fenóis totais. Pode confirmar-se também que o extrato AcMe1 utilizando amostra liofilizada foi o que manteve uma maior percentagem da atividade antioxidante, 34% do total, enquanto o extrato MeAg1 utilizando a amostra liofilizada foi o que manteve uma percentagem de atividade menor, 23% do total, mas muito próxima dos restantes extratos (a variar entre 24% e 25%). Confirma-se desta forma que o extrato onde se perderam menos compostos fenólicos foi também aquele onde se perdeu menos AAO.



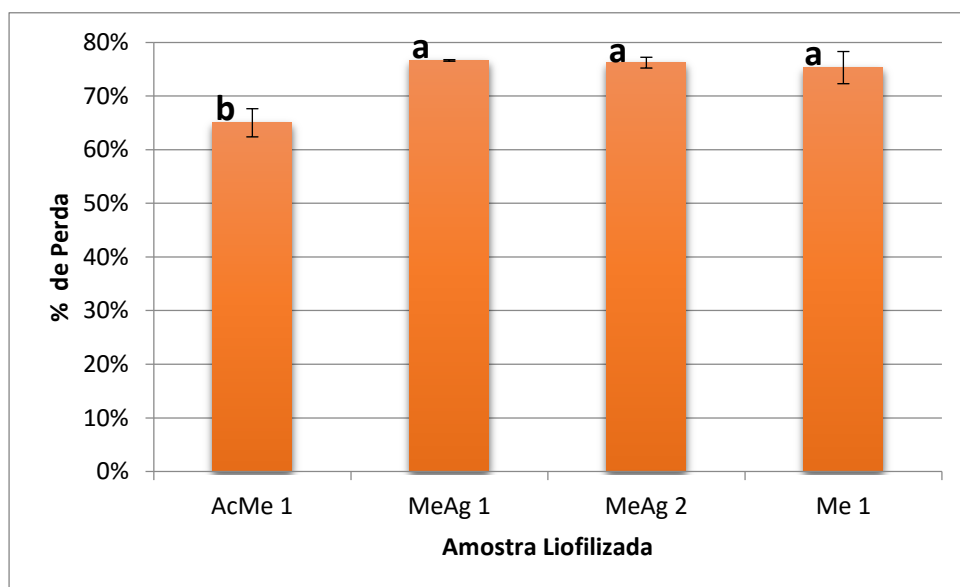
**Figura 32:** Percentagem de atividade antioxidante nos diferentes extratos ao longo do trato digestivo (Me – Metanol; AcMe – Acetona: Metanol; MeAg – Metanol: Água; MeAgAa – Metanol: Água: Ácido Acético).

Foi efetuada uma Anova para averiguar as diferenças estatísticas nas várias fases ao longo do trato intestinal (Figura 33). Os resultados mostram que existem diferenças significativas ( $F=187,093$ ;  $p=0,000$ ), sendo que a AAO vai diminuindo desde  $100\pm 0\%$  no início, passando para  $48\pm 12\%$  na boca, para  $36\pm 7\%$  no estômago e  $26\pm 5\%$  quando chega ao intestino, sendo esta apenas a fração que ainda está disponível para absorção. Os testes de comparações múltiplas (Post-Hoc) de Tukey mostraram que existem diferenças significativas em todas as fases ao longo do aparelho digestivo.



**Figura 33:** Variação da porcentagem de atividade antioxidante ao longo do trato digestivo (letras diferentes correspondem a amostras estatisticamente diferentes).

Os resultados da Anova realizada para comparar as perdas em atividade antioxidante ao longo de todo o trato intestinal, nos diferentes extratos com amostra liofilizada (Figura 34) mostram que existem diferenças significativas ( $F=15,465$ ;  $p=0,011$ ). O extrato AcMe1 originou uma perda total de  $65\pm 3\%$  da atividade antioxidante, e aos restantes extratos corresponderam perdas semelhantes (entre  $75\pm 0\%$  e  $77\pm 0\%$ ). Assim sendo, verifica-se o que foi observado também para o teor em compostos fenólicos, ou seja que o extrato AcMe1 com a amostra liofilizada foi o mais viável para a preservação da capacidade antioxidante. Os testes de comparação múltipla (Post-Hoc) de tukey mostram que apenas existem diferenças significativas entre o extrato AcMe 1 e os restantes, sendo que os outros não diferem entre si.



**Figura 34:** Perdas globais em atividade antioxidante ao longo do trato intestinal considerando diferentes extratos (Me – Metanol; AcMe – Acetona: Metanol; MeAg – Metanol: Água; MeAgAa – Metanol: Água: Ácido Acético) (letras diferentes correspondem a amostras estatisticamente diferentes).



## 9. Conclusões

Neste trabalho efetuou-se a caracterização de uma variedade de *Physalis* produzida numa exploração localizada na região Norte-Centro de Portugal, do ponto de vista das suas características físicas (características biométricas, textura e cor), e químicas (humidade, açúcares totais e redutores, acidez total titulável, sólidos solúveis, ácido ascórbico, carotenoides, teor em fenóis totais, orto-difenóis, flavonóides e atividade antioxidante), bem como as condições *in vitro* da simulação do trato digestivo.

Relativamente, às características biométricas, observa-se que as bagas em estudo apresentaram um diâmetro médio de  $1,69 \pm 0,16$  cm e uma massa média de  $2,77 \pm 0,67$  g.

As bagas são claras,  $L^* = 65,72 \pm 3,13$ , com uma tendência para a cor vermelha,  $a^* = 16,69 \pm 2,70$  e encontram-se no espectro amarelo,  $b^* = 57,94 \pm 3,60$ , com uma intensidade amarela elevada,  $H^\circ = 73,95 \pm 2,57$ .

Quanto à textura, a firmeza obtida foi de  $2,40 \pm 0,53$  N e a elasticidade foi de  $2,94 \pm 0,54$  mm.

A caracterização química mostrou que as *Physalis* eram maioritariamente compostas por água (83%), sendo a fibra (5%) e os açúcares totais (9%) resultados secundários. Continham também  $5,9 \mu\text{g/g}$  de carotenoides e 26 mg de ácido ascórbico por 100 g. A acidez total titulável foi de 1,25%, expresso em ácido cítrico, o teor em sólidos solúveis totais foi de 13,6 °Brix, permitindo desta forma calcular o índice de maturação, 10,9.

Os diferentes métodos de extração demonstraram que o metanol ou a mistura metanol:água são soluções adequadas para extrair compostos bioativos destes frutos.

O teor em compostos fenólicos totais encontrado na *Physalis* (43 a 60 mg EAG/100 g) mostra que estes frutos podem ser um bom atrativo para o aproveitamento tecnológico dos frutos. Por outro lado, os valores da atividade antioxidante variaram de 7,7 a 9,6  $\mu\text{mol TE/g}$ , quando determinada pelo método DPPH e de 12,3 a 13,7  $\mu\text{mol TE/g}$  pelo método ABTS.

Quando os extratos foram submetidos a condições *in vitro* simulantes do trato digestivo, verificou-se que ficavam disponíveis para absorção no intestino cerca de

25% do teor de compostos fenólicos inicialmente presentes, preservando entre 25 a 35% da sua atividade antioxidante.

Pode concluir-se que as *physalis* podem ser uma importante fonte de compostos bioativos aos quais estão associados efeitos benéficos para a saúde humana.



Norma Portuguesa: NP 1421 Determinação da acidez, 1977. Official Methods of Analysis -A.O.A.C., 15th Edition, Kenneth, USA, 1990

Norma Portuguesa: NP 1420 Determinação dos açúcares totais, dos açúcares redutores e dos açúcares não redutores (sacarose) Técnica de Luff-Schoorl. 1987 Official Methods of Analysis -A.O.A.C., 15th Edition, Kenneth, USA, 1990

Norma Portuguesa NP – 785 Derivados de frutos e de produtos hortícolas. Determinação do resíduo seco solúvel. Processo corrente. Official Methods of Analysis -A.O.A.C., 15th Edition, Kenneth, USA, 1990

Abe, L. T, Mota, R. V., Lajolo, F. M., Genovese, M. I., 2007. Compostos fenólicos e capacidade antioxidante de cultivares de uvas *Vitis labrusca* L. e *Vitis vinífera* L... Ciência e Tecnologia de Alimentos 27, 394-400.

Afsah, A.F.E., 2015. Survey of insects & mite associated Cape gooseberry plants (*Physalis peruviana* L.) and impact of some selected safe materials against the main pests. Annals of agricultural science 60, 183-191.

Alves, M. M. C., 2015. Polifenóis no vinho tinto e efeitos na saúde. Dissertação para obtenção do grau de Mestre em Ciências Farmacêuticas. Instituto Superior de Ciências da Saúde Egaz Moniz, Caparica, Portugal.

Antunes, L. E. C., 2002. Amora-Preta: Nova opção de cultivo no Brasil. Ciência Rural, Santa Maria 32, 151-158.

Balbi, S. F., 2009. Estudo de stress abiótico controlado na componente bioactiva de polpas de maçã. Dissertação para obtenção do Grau de Mestre em Engenharia Alimentar. Instituto Superior de Agronomia, Lisboa, Portugal.

Benavente-Garcia, O., Castillo, J., Marin, F. R., Ortuño, A., Rio, J. A. D., 1997. Uses and Properties of *Citrus* Flavonoids. Journal of Agricultural and Food Chemistry 45, 4505-4515.

Borges, L. L., Lúcio, T. C., Gil, E. S., Barbosa, E. F., 2011. Uma abordagem sobre métodos analíticos para determinação da atividade antioxidante em produtos naturais. Enciclopédia biosfera, centro científico conhecer 7, 1-20.

Botero, A., 2008. Aplicación de la Ingeniería de Matrices en el desarrollo da la uchuva mínimamente procesada fortificada con calcio y vitaminas C y E., Universidad de Antioquía, Medellín, Colombia.

Campos, D. A., Madureira, A. R., Sarmiento, B., Gomes, A. M., Maria Manuela Pintado, M. M, 2015. Stability of bioactive solid lipid nanoparticles loaded with herbal extracts when exposed to simulated gastrointestinal tract conditions. Food research internation 78, 131-140.

Carbonell-Capella, J. M., Buniowska, M., Esteve, M. J., Frígola, A., 2015. Effect of Stevia rebaudiana addition on bioaccessibility of bioactive compounds and antioxidant activity of beverages based on exotic fruits mixed with oat following simulated human digestion. Food chemistry 184, 122-130.

Carrasco, R. R., Zelada, C. R. E., 2008. Determinación de la capacidad antioxidante y compuestos bioactivos de frutas nativas Peruanas. Revista sociedad química Perú 74, 108-124.

Carvalho, L. M. J., Gomes, P.B., Godoy, R. L. O., Pacheco, S., Monte, P. H. F., Carvalho, J. L. V., Nutti, M. R., Neves, A. C. L., Vieira, A. C. R. A., Ramos, S. R. R., 2012. Total carotenoid content,  $\alpha$ -carotene and  $\beta$ -carotene, of landrace pumpkins (*Cucurbita moschata* Duch): A preliminary study. Food research international 47, 337-340.

Cedeño, M. M., Montenegro, D. M., 2004. Plan Exportador, Logístico y de Comercialización de uchuva al mercado de Estados Unidos para Frutexpo S.C.I. LTDA.. Trabajo de grado para optar por el título de Ingeniería Industrial. Pontificia Universidad Javeriana Facultad de Ingeniería, Bogotá, Colombia.

Chiabrando, V., Giacalone, G., Rolle, L., 2009. Mechanical behaviour and quality traits of highbush blueberry during postharvest storage. *Journal of the science food agriculture* 89, 989-992.

Chiumarelli, M., Ferreira, M. D., 2006. Qualidade pós-colheita de tomates 'Débora' com utilização de diferentes coberturas comestíveis e temperaturas de armazenamento. *Horticultura brasileira* 24, 381-385.

CODEX, 2005. Norma del codex para la uchuva, Codex Stan 226 2001, México.

Corporación Colombia Internacional (CCI), 2001. Uchuva. Perfil de producto. Bogotá: Sistema de Inteligencia de Mercados, 1-12.

Duarte-Almeida, J. M., Santos, R. J., Genovese, M. I., Lajolo, F. M., 2006. Avaliação da actividade antioxidante utilizando sistema  $\beta$ -caroteno/ácido linoléico e método de sequestro de radicais DPPH. *Ciência Tecnologia alimentar* 26, 446-452.

Ferreira, C. J. M., 2011. Caracterização físico-química de variedades de maçãs de Carrazeda de Ansiães. Dissertação de Mestrado em Biotecnologia e Qualidade Alimentar. Universidade de Trás-Os-Montes e Alto Douro, Vila Real, Portugal.

Franco, L. A., Matiz, G. E., Calle, J., Pinzón, R., Ospina, L. F., 2007. Actividad antiinflamatoria de extractos y fracciones obtenidas de cálices de *Physalis peruviana* L. *Biomédica* 27, 110-115.

García-Alonso, M., Pascual-Teresa, S., Santos-Buelga, C., Rivas-Gonzalo, J. C., 2004. Evaluation of the antioxidant properties of fruits. *Food Chemistry* 84, 13-18.

Giertych, M. J., Karolewski, P., Temmerman, L. O., 1999. Foliage and pollution alter content of phenolic compounds and chemical elements in Pinus Nigra Needles. Water, air, and soil pollution 110, 363-377.

Gonçalves, R. M. F., 2007. estudo da inibição de tripsina por compostos fenólicos isolados de fontes naturais. Efeito antinutricional de bebidas comuns. Departamento de Química Faculdade de Ciências da Universidade do Porto e Escola de Engenharia da Universidade do Minho, Porto, Portugal.

Gray, J., Black, L., Eriksen, F.D., Pilegaard, K., Plumb, J., Rhodes, M., Sheehan, D., Kiely, M., Kroon, P.A., 2007. EuroFIR-BASSIS - a combined composition and biological activity data base for bioactive compounds in plant - based foods. Trends in food scienc & tecnologia 18, 434-444.

Guedes, M. N. S., Abreu, C. M. P., Maro, L. A. C., Rafael Pio, Abreu, L. R., João Otávio de Oliveira, J. O., 2013. Chemical characterization and mineral levels in the fruits of blackberry cultivars grown in a tropical climate at an elevation. Acta scientiarum. agronomy maringá 35, 191-196.

Gutiérrez, T. M., Hoyos, O. L., Páez, M. I., 2007. Determinación del contenido de ácido ascórbico em uchuva (*Physalis peruviana* L.), por cromatografía líquida de alta resolución (CLAR). Facultad de ciencias agropecuarias 5, 70-79.

Harder, M. N. C., 2005. Efeito do urucum (*Bixa Orellana*) na alteração de características de ovos de galinhas poedeiras. Dissertação para a obtenção do título de Mestre em Ciências. Universidade de São Paulo - Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz", Piracicaba, Brasil.

Harder, M. N. C., Canniatti-Brazaca, S. G., Valter Arthur, V., 2007. "Avaliação quantitativa por colorímetro digital da cor do ovo de galinhas poedeiras alimentadas com urucum (*Bixa orellana*)." Revista portuguesa de cências veterinárias 102, 339-342.

Hedman, H., Konow, J. V., Kullerstrand, S., Jonas Naucér, J., Inga Sandstedt, I., 1989. Enciclopédia Combi Visual. Forum Iniciativas de Gestão, S.A., Lisboa.

Heleno, S. A., Barros, L., Martins, A., Queiroz, M. J. R. P., Morales, P., Fernández-Ruiz, V., Ferreira, I. C. F. R., 2015. Chemical composition, antioxidant activity and bioaccessibility studies in phenolic extracts of two *Hericium* wild edible species. LWT - food science and technology 63, 475-481.

Hiane, P. A., Bogo, D., Ramos, M. I. L., Filho, M. M. R., 2003. Corotenóides pró-vitamínicos A e composição em ácidos graxos do fruto e da farinha do bacuri (*Scheelea phalerata* Mart.). Ciência tecnologia alimentar 23, 206-209.

Hollman, P. C. H., and M. B. Katan, M. B., 1999. Dietary Flavonoids: Intake, Health Effects and Bioavailability. Food and Chemical Toxicology 37, 937-942.

ICONTEC NTC 4580, 1999. Frutas frescas: uchuva, especificaciones (Norma Técnica Colombiana NTC, 4580). Instituto Colombiano de Normas Tecnicas, Bogotá.

Kuskoski, E. M., Asuero, A. G., Morales, M. T., Fett, R., 2006. Frutos tropicais silvestres e polpas de frutas congeladas: atividade antioxidante, polifenóis e antocianinas. Ciência rural 36, 1283-1287.

Lan, Y.-H., Chang, F.-R., Pan, M.-J., Wu, C.-C., Wu, S.-J., Chen, S.-L., Wang, S.-S., Wu, M.-J., Wu, Y.-C. 2009. New cytotoxic withanolides from *Physalis peruviana*. Food chemistry 116, 462-469.

Legge, A. P., 1974. Notes on the history, cultivation and uses of *Physalis peruviana* L." Journal of the royal horticultural society 99, 310-314.

Licodiedoff, S., 2012. Caracterização físico-química e compostos bioativos em *Physalis peruviana* e derivados. Tese apresentada ao Programa pós-Graduação em engenharia de Alimentos, Setor de Tecnologia, como requisito parcial à obtenção de título de Doutora em Tecnologia de Alimentos. Universidade Federal do Paraná, Curitiba, Brasil.

Lima, A. C. S., Viana, J. D. R., Sabino, L. B. S., Silva, L. M. R., Silva, N. K. V., Sousa, P. H. M., 2016. Processing of three different cooking methods of cassava: Effects on in vitro bioaccessibility of phenolic compounds and antioxidant activity. *LWT - Food Science and Technology*.

Lima, C. S. M., Severo, J., Manica-Berto, R., Silva, J. A., Rufato, L., Andrea de Rossi Rufato, A. R., 2009. Características físico-químicas de *physalis* em diferentes colorações do cálice e sistemas de condução. *Revista brasileira fruticultura, joboticabal* 31, 1060-1068.

Lima, C. S. M., Gonçalves, M. A., Tomaz, Z. F. P., Rufato, A. R., José Carlos Fachinello, J. C., 2010. Sistemas de tutoramento e épocas de transplante de *physalis*. *Ciência rural, Santa Maria* 40, 2472-2479.

Lima, C. S. M., Galarça, S. P., Betemps, D. L., Rufato, A. R., Rufato, L., 2012. Avaliação física, química e fitoquímica de frutos de *physalis* ao longo do período de colheita. *Revista brasileira fruticultura* 34, 1004-1012.

Lopes, D. C. D. X. P., Freitas, Z. M. F., Santos, E.P., Tomassini, T. C. B., 2006. Atividades antimicrobiana e fototóxica de extratos de frutos e raízes de *Physalis angulata* L.. *Revista Brasileira de Farmacognosia* 16, 206-210.

Luchese, C. L., Gurak, P. D., Marczak, L. D. F., 2015. Osmotic dehydration of *physalis* (*Physalis peruviana* L.): Evaluation of water loss and sucrose incorporation and the quantification of carotenoids. *LWT - food science and technology* 63, 1128-1136.

Machado, A. M. L., 2006. Extração automática de contornos de edificações utilizando imagem gerada por câmara digital de pequeno formato e Dados Lidar. Curso de Pós-Graduação em Ciências Geodésicas. Universidade Federal do Paraná, Curitiba, Brasil.

Malacrida, C. R., Motta, S., 2005. Compostos Fenólicos totais e antocianinas em suco de uva. *Ciência Tecnologia Alimentar* 25, 659-664.

Malheiros, G. C., 2007. Estudo da alteração da cor e degradação da clorofila durante armazenagem de erva-mate tipo chimarrão. Dissertação de Mestrado. Universidade Federal De Santa Maria, Santa Maria, Brasil.

Manso, L., 2012. Produção de *Physalis Peruviana* em Portugal. *Voz do Campo, Investigação*, 46.

Maro, L. A. C., 2012. Fenologias das plantas, qualidade pós-colheita e conservação de framboesas. Tese, como parte das exigências do Programa de Pós-Graduação em Agronomia/Fitotecnia, área de concentração em Produção Vegetal, para a obtenção do título de Doutor. Universidade Federal de Lavras, Lavras - MG, Brasil.

McDougall, G. J., Dobson, P., Smith, P., Blake, A., Stewart, D., 2005. Assessing potential bioavailability of raspberry anthocyanins using an in vitro digestion system. *Journal of agricultural and food chemistry* 53, 5896–5904

Meda, A., Lamien, C. E., Romito, M., Millogo, J., Nacoulma, O. G., 2005. Determination of the total phenolic, flavonoid and proline contents in Burkina Fasan honey, as well as their radical scavenging activity. *Food chemistry* 91 571-577.

Molina-Calle, M., Priego-Capote, F., Castro, M. D. L., 2015. Development and application of a quantitative method for determination of flavonoids in orange peel: Influence of sample pretreatment on composition. *Talanta* 144 349-355.

Moraes, K. S., 2013. Influência da atmosfera modificada e cobertura comestível na qualidade de physalis (*Physalis peruviana* L.) armazenada em diferentes temperatura. Dissertação de Mestrado em Ciências. Área de concentração: Ciência e Tecnologia de Alimentos Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis, Brasil.

Moretti, C. L., Sargent, S. A., 2000. Alteração de sabor e aroma em tomates causada por impacto. *Scientia Agricola* 57, 385-388.

Moura, P. H. A., 2013. Cobertura plástica e densidade de plantio na produção e qualidade das frutas de *Physalis peruviana* L. Tese como parte das exigências do Programa de Pós- Graduação em Agronomia/Fitotecnia, área de concentração em Produção Vegetal, para a obtenção do título de Doutor. Universidade Federal de Lavras, Lavras - MG, Brasil.

Muniz, J., Kretschmar, A. A., Rufato, L., Gatiboni, L. C., 2012. Principais pesquisas realizadas com o cultivo de physalis no sul do Brasil. *Fruticultura*, 1-19.

Muniz, J., Kretschmar, A. A., Rufato, L., Pelizza, T. R., Marchi, T., Duarte, A. E., Lima, A. P. F., Garanhani, F., 2011. Sistemas de condução para o cultivo de physalis no Planalto Catarinense. *Revista Brasileira Fruticultura*, Joboticabal 33, 830-833.

Nascimento, J. C., Lage, L. F. O., Camargos, C. R. D., Amaral, J. C., Costa, L. M., Sousa, A. N., Oliveira, F. Q., 2011. Determinação da atividade antioxidante pelo método DPPH e doseamento de flavonóides totais em extratos de folhas da *Bauhinia variegata* L. *Revista brasileira de farmácia* 92, 327-332.

Novoa, R. H., Bojacá, M., Galvis, J. A., Gerhard Fischer, G., 2006. La madurez del fruto y el secado del cáliz influyen en el comportamiento poscosecha de la uchuva, almacenada a 12 C (*Physalis peruviana* L.). *Agronomia colombiana* 24, 77-86.

Oliveira, J. A. R., Martins, L. H. S., Vasconcelos, M. A. M., Pena, R. S., Carvalho, A. V., 2011. Caracterização física, físicoquímica e potencial tecnológico de Frutos de campu (*Physalis angulata* L.). Revista brasileira de tecnologia Agroindustrial 5, 573-583.

Patarra, R. F., Paiva, L., Neto, A. I., Lima, E., Baptista, J., 2010. Nutritional value of selected macroalgae. Journal of Applied Phycology 23, 205-208.

Peixoto, N., Peixoto, F. C., Vaz, U. L., Neri, S. C. M., Monteiro, J. G., 2010. Adubação orgânica e cobertura do solo no crescimento e produção de camapu. Horticultura brasileira 28, 370-372.

Porto, L. P. R. S., 2007. Estudo In Vitro da estabilidade de cor e opacidade de cinco sistemas cerâmicos sob influência do envelhecimento artificial acelerado. Dissertação da Pós-Graduação da área de Reabilitação oral para a obtenção do título de Doutor em Odontologia. Universidade de São Paulo Faculdade de Odontologia de Ribeirão Preto, Ribeirão Preto, Brasil.

Puente, L. A., Pinto-Muñoz, C. A., Castro, E. S., Cortés, M., 2011. *Physalis peruviana* Linnaeus, the multiple properties of a highly functional fruit: A review. Food Research international 44, 1733-1740.

Ramadan, M. F., 2011. Bioactive phytochemicals, nutritional value, and functional properties of cape gooseberry (*Physalis peruviana*): An overview. Food research international 44, 1830-1836.

Ramos, M. I. L., Umaki, M. C.S., Hiane, P. A., Filho, M. M. R., 2001. Efeito do cozimento convencional sobre os carotenóides pró vitamínicos (Caryocar brasiliense Camb). Boletim do centro de pesquisa de processamento de alimentos 19, 23-32.

Ribeiro, V. L. M. C. 2012. Estudo de compostos bioativos em *Adansonia digitata* e o seu potencial fitoquímico na indústria farmacêutica. Dissertação de Mestrado em Ciência Farmacêuticas. Universidade Fernando Pessoa e Faculdade de Ciências da Saúde, Porto, Portugal.

Rocha, S. M., 2009. Porque se estudam os compostos voláteis dos alimentos de origem vegetal?, Fundação para a Ciência e a Tecnologia, Lisboa.

Rocha, W. S., Lopes, R. M., Silva, D. B., Vieira, R. F., Silva, J. P., Agostini-Costa, T. S., 2011. "Compostos Fenólicos Totais e Taninos Condensados em Frutas Nativas do Cerrado." *Revevista Brasileira de Fruticultura* 33, 1215-1221.

Rockenbach, I. I., Rodrigues, E., Cataneo, C., Gonzaga, L. V., Lima, A., Mancini-Filho, J., Fett, R., 2008. Ácidos fenólicos e atividade antioxidante em fruto de *Physalis Peruviana* L. *Alimentação nutrição, araraquara* 19, 271-276.

Rodrigues, F. A., Penoni, E. S., Soares, J. D. R., Pasqual, M. 2013. Diferentes concentrações de sais do meio MS e BAP na multiplicação *In Vitro* de *Physalis peruviana* L. *Bioscience journal* 29, 77-82.

Rodrigues, F. A., Penoni, E. S., Soares, J. D. R., Silva, R. A. L., Pasqual, M., 2013. Caracterização fenólica e produtividade de *Physalis peruviana* cultivada em casa de vegetação. *Bioscience journal* 29, 1771-1777.

Rodrigues, R. C., 2010. Métodos de Análises Bromatológicas de Alimentos: Métodos Físicos, Químicos e Bromatológicos. Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária Embrapa Clima Temperado, Pelotas

Rodríguez-Roque, M. J., Ancos, B., Sánchez-Moreno, C., Cano, M. P., Elez-Martínez, P., Martín-Belloso, O., 2015. Impact of food matrix and processing on the in vitro bioaccessibility of vitamin C, phenolic compounds, and hydrophilic antioxidant activity from fruit juice-based beverages. *Journal of functional foods* 14, 33-43.

Roesler, R., Malta, L. G., Carrasco, L. C., Holanda, R. B., Sousa, C. A. S., Glaucia Maria Pastore, G. M., 2007. Atividade antioxidante de frutas do cerrado. *Ciência tecnologia alimentar* 27, 53-60.

Rufino, M. S. M., Alves, R. E., Brito, E. M., Morais, S. M., Sampaio, C. G., Pérez-Jiménez, J., Saura-Calixto, F. D., 2007. Metodologia Científica: Determinação da Atividade Antioxidante Total em Frutas pela Captura do Radical Livre ABTS. Ministério da agricultura, pecuária e abastecimento comunicado tecnico 128, 1-4.

Rufino, M. S. M., Alves, R. E., Brito, E. S., Morais, S. M., Sampaio, C. G., Pérez-Jiménez, J., Saura-Calixtp, F. D., 2007. Metodologia Científica: Determinação da Atividade Antioxidante Total em Frutas pela Captura do Radical Livre DPPH. Comunicado tecnico ministério da agricultura, pecuária e abastecimento 127, 1-4.

Santos, B. L., Oliveira, M. N., Coelho, P. L. C., Pitanga, B. P.S., Silva, A. B., Adelita, T., Silva, V. D. A., Costa, M. F. D., El-Bachá, R. S., Tardy, M., Chneiweiss, H., Junier, M.-P., Moura-Neto, V., Costa, S. L., 2015. Flavonoids suppress human glioblastoma cell growth by inhibiting cell metabolism, migration, and by regulating extracellular matrix proteins and metalloproteinases expression. *Chemico-biological interactions* 242, 123-138.

Santos, S. C. R. V. L., Guiné, R., Barros, A., 2014 Effect of drying temperatures on the phenolic composition and antioxidant activity of pears of Rocha Variety (*Pyrus communis* L.). *Food measure* 8, 105-112.

Silva, J., Silva, E. S., Silva, P. S. L., 2002. Determinação da qualidade e do teor da sólidos soluveis nas diferentes partes do fruto da pinheira (*Annona squamosa* L.). *Revista Brasileira de Fruticultura* 24, 562-564.

Silva, M. L. C., Costa, R. S., Santana, A. S., Koblitz, M. G. B., 2010. Compostos fenólicos, carotenoides e atividade antioxidante em produtos vegetais. *Revista Ciências Agrárias* 3, 669-682.

Silva, R. N., Monteiro, V. N., Alcanfor, J. D. X., Assis, E. M., Asquieri, E. R., 2003. Comparação de métodos para a determinação de açúcares redutores e totais em mel. *Ciência e tecnologia alimentar* 23, 337-341.

Simões, D. R. S., N Waszczynskyj, N., Wosiacki, G., 2009. Aromas em maçãs, suco e sidra: Revisão. *Boletim do centro de pesquisa de processamento de alimentos* 27, 153-172.

Sousa, C. M. M., Silva, H. R., Vieira-Jr., G. M., Ayres, M. C. C., Costa, C. L. S., Araújo, D. S., Cavalcante, L. C. D., Barros, E. D. S., Araújo, P. B. M., Brandão, M. S., Chaves, M. H., 2007. Fenóis totais e atividade antioxidante de cinco plantas medicinais. *Quimica nova* 30, 351-355.

Soutinho, S. M. A., 2012. Avaliação dos compostos fenólicos e da actividade antioxidante de frutos vermelhos produzidos em modo biológico. Dissertação Mestrado em Qualidade e Tecnologia Alimentar. Escola Superior Agrária de Viseu. Viseu, Portugal.

Tiveron, A. P., 2010. Atividade antioxidante e composição fenólica de legumes e verduras consumidos no Brasil. Dissertação de Mestrado em Ciências. Área de concentração: Ciência e Tecnologia de Alimentos. Universidade de São Paulo - Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz", Piracicaba, Brasil.

Tomassin, T. C. B., Barbi, N. S., Ribeiro, I. M., Xavier, D. C. D., 2000. Gênero *Physalis* - Uma revisão sobre vitaesteróides. *Química nova* 23, 47-57.

Trincherro, G. D., Sozzi, G. O., Cerri, A. M., Vilella, F., Fraschina A. A., 1999. Ripening-related changes in ethylene production, respiration rate and cell-wall enzyme activity in goldenberry (*Physalis peruviana* L.), a solanaceous species." *Postharvest biology and technology* 16, 139-145.

Uenojo, M., Junior, M. R. M., Pastore, G. M., 2007. Carotenóides: propriedades, aplicações e biotransformação para formação de compostos de aroma. *Quimica nova* 30, 616-622.

Valdantas, S., 2013. Capacidade antioxidante e compostos fenólicos de madeiras com uso enológico: influência do grau de tosta Dissertação de Mestrado em Vinicultura e Enologia. Escola de Ciências e Tecnologia - Departamento de Fitotecnia, Évora, Portugal.

Vasco, C., Jenny Ruales, J., Kamal-Eldin, A., 2008. "Total phenolic compounds and antioxidant capacities of major fruits from Ecuador. *Food chemistry* 111, 816-823.

Vega-Gálvez, A., Diaz, R., López, J., Galotto, M. J., Reyes, J. E., Perez-Won, M., Puente-Diaz, L., Scala, K. D., 2016. Assessment of quality parameters and microbial characteristics of Cape gooseberry pulp (*Physalis peruviana* L.) subjected to high hydrostatic pressure treatment. *Food and bioproducts processing* 97, 30-40.

Vega-Gálvez, A., Scala, K. D., Rodríguez, K., Lumus-Mondaca, R., Miranda, M., López, J., Perez-won, M., 2009. Effect of air-drying temperature on physico-chemical properties, antioxidant capacity, colour and total phenolic content of red pepper (*Capsicum annum*, L. var. Hungarian). *Food chemistry* 117, 647-653.

Vega-Gálvez, A., López, J., Torres-Ossandón, M. J., Galotto, M. J., Piente-Díaz, L., Quispe-Fuentes, I., Scala, K. D., 2014. High hydrostatic pressure effect on chemical composition, color, phenolic acids and antioxidant capacity of Cape gooseberry pulp (*Physalis peruviana* L.). *LWT - food science and technology* 58, 519-526.

Vieira, R. A. M., Pereira, J. C., Mlafaia, P. A. M., Queiroz, A. C., Jordão, C. P., André Luigi Gonçalves, A. L., 2000. Simulação da Dinâmica de Nutrientes no Trato Gastrointestinal: Aplicação e Validação de um Modelo Matemático para Bovinos a Pasto. *Revista brasileira zootecnia* 23, 698-909.

Yao, L. H., Jiang, Y. M., Shi, J., Tomás-Barberán, F. A., Datta, N., Singanusong, R., Chen, S. S., 2004. Flavonoids in food and their health benefits. *Plant Foods for Human Nutrition* 59, 113-122.

Wu, S-J., Ng, L. T., Huang, Y. M., Lin D. L., Wang S. S., Huang, S. N., Lin, C. C., 2005. Antioxidant Activities of *Physalis peruviana*. *Biological pharmaceutical Bulletin* 28, 963-966.