



Universidade de Brasília

Faculdade de Ciências da Saúde

Programa de Pós-Graduação em Nutrição Humana

Efeito do sistema de condução (latada ou espaldeira) e estação do ano em compostos bioativos, atividade antioxidante e qualidade sensorial de polpa de

Passiflora setacea

MARIANA VERAS OLIVEIRA DE CARVALHO

Brasília

2017



Universidade de Brasília

Faculdade de Ciências da Saúde

Programa de Pós-Graduação em Nutrição Humana

Mariana Veras Oliveira de Carvalho

Tese apresentada como requisito parcial para obtenção do título de Doutor em Nutrição Humana pelo Programa de Pós-Graduação em Nutrição Humana da Faculdade de Ciências da Saúde, Universidade de Brasília.

Orientadora: Dra. Livia de Lacerda de Oliveira

Co Orientadora: Dra. Ana Maria Costa

Brasília

2017

Dedico este trabalho...

À minha filha, Júlia, minha maior motivação.

Ao meu noivo, Vinícius, pelo carinho, encorajamento e compreensão.

À minha família pelo apoio constante e por estarem sempre ao meu lado.

*O estudo em geral, a busca da verdade e da beleza são domínios em que nos é consentido
ficar crianças toda a vida.*

Albert Einstein

AGRADECIMENTOS

À Deus, por estar sempre presente em minha vida, me trazendo sabedoria e perseverança.

Aos meus familiares que sempre me apoiaram e acreditaram no meu trabalho como fruto de um sonho concretizado.

À minha filha Júlia, que participou ativamente no meu ventre no meio desta jornada e se tornou minha maior motivação para terminá-la.

À Professora Livia, pelo apoio, confiança e pela amizade que sempre encontrei. Por me ensinar a ser verdadeiramente uma pesquisadora e superar cada dificuldade.

À Dra. Ana Maria Costa, pela idealização deste projeto, disponibilização de amostras e financiamento, via rede Passitec.

Ao IFB pela concessão do afastamento para qualificação.

A Leca (Valesca Trapp), Rafael Martins e aos técnicos e estagiários da EMBRAPA Cerrados, que me auxiliaram na coleta de frutos e processamento das polpas. Especialmente, ao Idelbrando, que me apoiou no processamento das polpas durante a minha licença maternidade e em tudo que eu precisei na Embrapa.

Ao Marcos Sodré, pelo apoio indispensável na validação das técnicas, pela paciência, pela obstinação em tornar tudo possível, juntamente com Isadora Celestino ("minha pibic"), Isabela Freitas e Maria do Desterro, pela grande colaboração nas análises laboratoriais.

Aos colegas do LTMAC, Fernando Pires de Sá, Breno Matos e Ricardo Nunes, pelo apoio com as análises no HPLC.

Ao Dr. Fabio Faleiro e Dra. Sonia Celestino, pelo apoio com indicação de referências e cálculos de experimentos, respectivamente.

Ao Dr. Juaci e professor Dr. Ernandes, pelo suporte no tratamento estatístico.

À minha ilustre banca de qualificação: Professora Dra. Sandra Arruda, Professora Dra. Raquel Botelho, Professora Dra. Marileusa Chiarello e Professora Dra. Teresa Costa, pelas orientações e sugestões.

Às amigas da UnB Dra. Marcela de Sá, Dra. Izabel Gadioli, Ms. Lorena Aguiar, Ms. Alejandra Ortega e Ms. Maria do Desterro, pela amizade e companheirismo nos momentos difíceis. Vocês são divas!

Por fim, agradeço especialmente ao meu noivo Vinícius que me apoiou, me ajudou de todas as formas, entendeu a minha ausência, e que mesmo assim não se afastou de mim.

A todos os provedores participantes e todos aqueles que, de alguma forma, contribuíram para a realização deste trabalho. Minha eterna gratidão a todos vocês!

RESUMO

A *Passiflora setacea* é um fruto nativo do cerrado brasileiro. Sua polpa, naturalmente adocicada, pode ser considerada uma boa fonte de compostos bioativos. Diante da crescente demanda nacional e internacional por frutas tropicais, alimentos funcionais e bebidas prontas para o consumo, a polpa de *Passiflora setacea* se destaca com um grande potencial para a agroindústria. A composição fitoquímica e o perfil sensorial dos frutos são influenciados pelas condições edafoclimáticas como fatores climatológicos e técnicas de gerenciamento do cultivo, tais como os sistemas de condução, sendo os mais utilizados para o cultivo do maracujá os sistemas na forma de espaladeira e latada, onde o fruto é exposto à luz solar de forma distinta, o que pode afetar a sua composição química, uma vez que a luminosidade modula o processo fotossintético. Simultaneamente, fatores ambientais como chuvas, umidade, temperatura e exposição solar podem influenciar a composição química e qualidade sensorial do fruto. Neste sentido, este trabalho teve como objetivo avaliar o efeito do sistema de condução (em latada ou espaladeira) e da estação do ano (nos períodos seco e chuvoso) nos compostos bioativos, atividade antioxidante e qualidade sensorial de polpas de *Passiflora setacea*. Assim, foram analisadas quatro amostras: latada seca (LS), latada chuva (LC), espaladeira seca (ES), espaladeira chuva (EC). Foram analisados compostos fenólicos totais (TP), taninos condensados ou proantocianidinas (PA), flavonoides totais (TF), carotenoides totais, vitamina C e atividade antioxidante total pelos métodos DPPH e FRAP. As *Passifloras* são ricas em compostos flavonoides. Assim, cinco flavonoides (orientina, isoorientina, vitexina, isovitexina e hesperetina) foram quantificados por HPLC-DAD, utilizando-se curvas de calibração. Foram analisadas ainda a influência do sistema de condução (latada ou espaladeira), estações do ano (condições climáticas em períodos de seca e chuva) na qualidade sensorial dos refrescos preparados com polpas de *P. setacea* por meio de escala hedônica de nove pontos para aceitação e *check all that apply* (CATA) como método descritivo. Com relação aos efeitos dos sistemas de condução nos compostos bioativos e atividade antioxidante, observou-se que, para carotenoides e vitamina C, houve diferença significativa entre o sistema de espaladeira e latada, com conteúdo mais elevado em amostras do sistema espaladeira. Já para TP, PA, TF, atividade antioxidante (DPPH e FRAP), não houve diferença significativa entre os tratamentos espaladeira e latada. As estações seca ou chuvosa geraram diferenças significativas entre os conteúdos de flavonoides totais, orientina, isovitexina e hesperetina e atividade antioxidante por FRAP, com concentrações significativamente maiores no ano 2 da estação chuvosa, período de menor luminosidade. Quanto à qualidade sensorial, embora o sistema de condução e a estação do ano apresentem impacto nas variáveis físico-químicas (pH, sólidos solúveis totais e acidez titulável) e fitoquímicas (fenólicos totais e taninos condensados), esses fatores ambientais não influenciaram a aceitação isoladamente. No entanto, houve uma interação entre esses fatores, que deve ser considerada com vista à projeção do mercado. A análise hierárquica de clusters, resultou na formação de dois segmentos de consumidores. Um deles atribuiu altas médias de aceitação para todas as amostras. Este cluster apresentou comportamento neofílico e maior nível de conhecimento e aceitação sobre alimentos funcionais. Já as variáveis de frequência de consumo de maracujá e de produtos alimentares funcionais não diferiu entre os clusters, não se relacionando à aceitação dos néctares de *P. setacea*.

Palavras-chave: *Passiflora setacea*, compostos fenólicos, atividade antioxidante *in vitro*, flavonoides, qualidade sensorial.

ABSTRACT

Passiflora setacea is a native fruit from Brazilian savannah. Its pulp, naturally sweet, can be considered a good source of bioactive compounds. Faced with the growing national and international demand for tropical fruits, functional foods and beverages ready to drink, the *Passiflora setacea* pulp stands out for its great potential for agroindustry. The sensory quality and phytochemical composition is influenced by environmental factors and management techniques such as climate conditions and training system. Espalier and trellis training systems are the most used in passion fruit crop. In these training systems, the fruit is exposed to sunlight in a different way, which can affect its chemical composition, once luminosity modulates the photosynthetic process. Simultaneously, environmental factors such as rainfall, humidity, temperature and sun exposure can influence the fruit chemical composition and sensorial quality. This work aimed to define the edaphoclimatic conditions that promote greater expression of bioactive compounds and greater acceptance in *Passiflora setacea* pulps. Thus, the influence of the training system (espalier or trellis) and environmental factors (temperature, precipitation (mm), humidity and sun exposure) in the dry or rainy season were evaluated on the antioxidant capacity and bioactive compounds of the *P. setacea* pulp. Four samples were analyzed: espalier dry season (ED), espalier rainy season (ER), trellis dry season (TD) and trellis rainy season (TR). Total phenolic compounds (TP), condensed tannins or proanthocyanidins (PA), total flavonoids (TF), total carotenoids, vitamin C and total antioxidant activity by DPPH and FRAP methods were analyzed. *Passifloras* are rich in flavonoid compounds. Thus, five flavonoids (orientin, isorientin, vitexin, isovitexin and hesperetin) were quantified by HPLC-DAD, using calibration curves. It were analysed the influence of the training system (trellis or espalier), seasons (climatic conditions in dry and rainy season) the sensory quality by hedonic scale for acceptance and check all that apply (CATA) as a descriptive method of nectars prepared with *P. setacea* pulps. Regarding the effects of conduction systems on bioactive compounds and antioxidant activity, it was observed that, for carotenoids and vitamin C, there was a significant difference between the espalier and trellis system, with higher contents in samples on espalier system while for TP, PA, TF, antioxidant activity (DPPH and FRAP), there was no significant difference between espalier and trellis treatments. The dry or rainy seasons resulted in significant differences between the contents of total flavonoids, orientin, isovitexin and hesperetina and FRAP antioxidant activity, with significantly higher concentrations in the rainy season of year 2. Regarding the sensory quality, although the conduction system and the season of the year have an impact on the physical-chemical variables (pH, total soluble solids and titratable acidity) and phytochemicals (total phenolics and condensed tannins), these environmental factors did not influence acceptance as isolated factors. However, there was an interaction between these factors, which should be considered with a view to market projection. Hierarchical analysis of clusters resulted in the formation of two consumer segments. One of them attributed high acceptance averages to all samples. This cluster presented neophilic behavior and a higher level of knowledge and acceptance of functional foods. The frequency of consumption of passion fruit and functional food products did not differ among the clusters, and was not related to the acceptance of *P. setacea* nectars.

Keywords: *Passiflora setacea*, phenolic compounds, antioxidant activity, flavonoids, sensory quality.

LISTA DE FIGURAS

CAPÍTULO 1

Figura 1. Sistema de condução Espaldeira.....	32
Figura 2. Sistema de condução Latada	33
Figura 3. Vias de construção de metabólitos secundários.	37
Figura 4. Estrutura da molécula precursora de flavonoides.	38
Figura 5. Estrutura química da luteolina.	39
Figura 6. Estrutura da orientina (luteolina-8-C- glicosídeo)	40
Figura 7. Estrutura da isoorientina (luteolina-6-C- glicosídeo)	40
Figura 8. Estrutura da vitexina (apigenina-8-C- glicosídeo)	40
Figura 9. Estrutura da isovitexina (apigenina-6-C- glicosídeo).	40
Figura 10. Estrutura da Hesperetina.	42
Figura 11. Formação de proantocianidinas.....	43
Figura 12. Proantocianidina B2 (Epicatechin 4 β * epicatechin).....	44
Figura 13. Síntese de ácido ascórbico.....	48
Figura 14. Exemplo de formulário do método check all that apply.....	59

CAPÍTULO 2

Figura 1. Sistema de condução espaldeira	64
Figura 2. Sistema de condução Latada	64
Figura 3. Ficha de análise sensorial- levantamento de descritores pelo método Repertory Grid.....	78

CAPÍTULO 3

Figure 1. (a) HPLC overlay chromatogram of orientin, isoorientin, vitexin, isovitexin standards and Passiflora setacea pulp extract. (b) HPLC overlay chromatogram of hesperetin standard and Passiflora setacea pulp extract.	117
Figure 2. PCA Map of Phytochemical content of Passiflora setacea pulp. Percentage in parenthesis represents the variation of each component.	122

CAPÍTULO 4

Figure 1. Maximum, minimum and average daily temperatures (°C), Humidity (%), sunlight exposure (hours) and monthly rainfall data, comparing dry season and rainy season.	138
Figure 2. Passiflora setacea nectars penalty analysis based on Clusters' CATA frequency table and acceptance.	149

LISTA DE TABELAS

CAPÍTULO 1

Tabela 1. Composição em compostos bioativos e atividade antioxidante de variedades de <i>Passiflora setacea</i> - Dados da literatura em base seca (BS) ou base úmida (BU).....	25
---	----

CAPÍTULO 3

Table 1. Climatic data of the dry and rainy seasons, of the two years analyzed - Main climatic station of Embrapa Cerrados, Planaltina (DF).....	107
Table 2. Chemical composition and antioxidant activity and <i>Passiflora setacea</i> pulp cultivated in espalier or trellis training systems, in dry or rainy seasons expressed in fresh mass (FM).....	109
Table 3. Chromatographic data of phenolic standards used in quantification of Flavonoids in <i>P. setacea</i> pulp.....	117
Table 4. C-glycosylflavonoids and hesperetin content in <i>Passiflora setacea</i> pulp (dry weight).....	119

CAPÍTULO 4

Table 1. Physical-chemical characteristics of <i>Passiflora setacea</i> nectars.	139
Table 2. Total phenolics compounds and tannins (proanthocyanin B2) in <i>Passiflora setacea</i> nectars.....	141
Table 3. Acceptance and cluster hierarchical analysis applied to <i>Passiflora setacea</i> nectars.....	143
Table 4. Cochran's Q tests for each attribute in <i>Passiflora setacea</i> nectars.	145
Table 5. Consumer's characterization according to demographic, consumption and attitudinal variables.....	149

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

AA: ácido ascórbico

ABA: ácido abscísico

AGE ou GAE: ácido gálico equivalente

ATT: acidez total titulável

BS: base seca ou dry mass

BU: base úmida ou fresh mass

CATA: check all that apply method

Ct: carotenoides total

DHA: ácido dehidroascórbico

DMAC: 4-dimetilaminocinamaldeído

DPPH: 2,2- diphenil-1-picril-hidrazila

ED: Espalier dry season

ER: Espalier rainy season

FRAP: poder antioxidante de redução do Fe³⁺

GD: graus dia acumulados

HPLC: cromatografia líquida de alta eficiência

IBGE: Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística

P. setacea BRS-PC: *Passiflora setacea* variedade pérola do cerrado

PA: taninos condensados

PB2: procianidina B2 equivalente

pH: potencial hidrogeniônico

PS: Pool com sementes de *Passiflora setacea*

PSF: Pool com sementes de *Passiflora setacea* filtrada

RNC: registro nacional de cultivares

rpm: rotação por minuto

SPNC: Serviço Nacional de Proteção de Cultivares

SST: sólidos solúveis totais

Sun: Insolação total

Tb: temperatura base

TE: trolox equivalente

TF: Total flavonoids

TM: temperatura máxima diária

Tm: temperatura mínima diária

TP: total phenolic compounds

TD: Trellis dry season

TR: Trellis rainy season

UR: Umidade relativa do ar

UV: ultravioleta

SUMÁRIO

INTRODUÇÃO	14
ESTRUTURA DA TESE	17
CAPÍTULO 1 - REVISÃO BIBLIOGRÁFICA.....	18
1.1. Biodiversidade no Brasil: O Cerrado Brasileiro	18
1.2. Passifloras.....	20
1.3. Passiflora setacea	22
1.4. Ecofisiologia do maracujazeiro	26
1.4.1. Fatores climáticos	26
1.4.2. Sistemas de condução	30
1.4.3. Metabolismo secundário.....	34
1.4.4. Influência de fatores edafoclimáticos no metabolismo secundário	49
1.5. Análise Sensorial de Alimentos	55
1.5.1. Testes discriminativos	55
1.5.2. Testes afetivos	56
1.5.3. Testes Descritivos	57
1.5.4. Check All That Apply (CATA)	58
CAPÍTULO 2 - OBJETIVOS, MATERIAIS E MÉTODOS DE PESQUISA.....	62
2. 62	
2.1. OBJETIVOS	62
2.1.1. Objetivo geral	62
2.1.2. Objetivos específicos.....	62
2.2. MATERIAIS E MÉTODOS.....	63
2.2.1. Materiais.....	63
2.2.1.1. Desenho experimental.....	64
2.2.1.2. Coleta de amostras	65
2.2.2. MÉTODOS	66
2.2.2.1. Dados Climatológicos.....	66
2.2.2.2. Umidade da polpa de Passiflora setacea	67
2.2.2.3. Análises físico-químicas e químicas.....	67
2.2.2.3.1. Potencial hidrogeniônico (pH)	67
2.2.2.3.2. Acidez total titulável (ATT).....	68
2.2.2.3.3. Análise de sólidos solúveis totais	68
2.2.2.3.4. Ratio	68
2.2.2.3.5. Determinação de Carotenoides Totais	69
2.2.2.3.6. Vitamina C Total por Cromatografia Líquida de Alta Eficiência (HPLC)	69
2.2.2.3.6.1. Conversão de ácido desidroascórbico (DHA) em ácido ascórbico (AA)	69
2.2.2.3.6.2. Determinação de ácido ascórbico total por HPLC.....	70
2.2.2.3.7. Análise de flavonoides totais	70
2.2.2.3.8. Teor de fenólicos totais, taninos condensados e atividade antioxidante	70
2.2.2.3.8.1. Preparo de extratos para determinação de compostos fenólicos totais, atividade antioxidante por DPPH (Diphenyl-1-picrylhydrazyl) e Ferric Reducing Antioxidant Power (FRAP) e taninos condensados	70
2.2.2.3.8.2. Análise de Fenólicos Totais.....	71

2.2.2.3.8.3.	Determinação de taninos condensados pelo método DMAC	71
2.2.2.3.8.4.	Atividade Antioxidante Total por DPPH (2-2 Diphenyl-1-picrylhydrazyl) 71	
2.2.2.3.8.5.	Análise de Atividade Antioxidante Total por Ferric Reducing Antioxidant Power (FRAP).....	72
2.2.2.3.9.	Determinação de flavonoides	72
2.2.2.3.9.1.	Preparo de extratos	72
2.2.2.3.9.2.	Equipamento e condições cromatográficas	73
2.2.2.4.	Análise Sensorial	74
2.2.2.4.1.	Amostras	74
2.2.2.4.2.	Teste de aceitação	75
2.2.2.4.3.	Avaliadores.....	75
2.2.2.4.4.	Teste Descritivo (Check all that apply)	76
2.2.2.4.4.1.	Definição de Descritores	76
2.2.2.4.4.2.	Teste sensorial CATA.....	79
2.2.2.4.4.3.	Caracterização dos consumidores	79
2.2.2.5.	Análise estatística	80
	REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	83
3.	CAPÍTULO 3 - RESULTADOS E DISCUSSÃO ARTIGO 1	97
	ABSTRACT 98	
3.1.	INTRODUCTION	99
3.2.	MATERIALS AND METHODS.....	100
3.2.1.	Chemical reagents	100
3.2.2.	Plant materials.....	101
3.2.3.	Chemical analysis	102
3.2.3.1.	Total ascorbic acid	102
3.2.3.2.	Total Carotenoids content	103
3.2.3.3.	Total phenolic compounds (TPC), proantocyanidins (PA) and Total antioxidant activity (TAA).....	103
3.2.3.4.	Total Flavonoids analysis	104
3.2.3.5.	Flavonoids quantification	104
3.2.3.6.	Climatic data.....	105
3.2.3.7.	Statistical analysis	106
3.3.	RESULTS AND DISCUSSION	106
3.3.1.	Effect of environmental factors on bioactive compounds.....	106
3.3.2.	Variation in antioxidant activity	113
3.3.3.	Variation in Flavonoids quantification	115
3.3.4.	Principal component analysis	121
3.4.	CONCLUSION	123
	Acknowledgements	124
3.5.	REFERENCES.....	124
4.	CAPÍTULO 4 - RESULTADOS E DISCUSSÃO ARTIGO 2	127
	ABSTRACT 128	
4.1.	INTRODUCTION	129
4.2.	MATERIALS AND METHODS.....	131
4.2.1.	Characterization of geographic and environmental conditions	131
4.2.2.	Processing of Passiflora setacea pulps	132
4.2.3.	Consumers tests	132
4.2.4.	Descriptors definition	132

4.2.5.	Sample preparation to consumer tests and chemical analysis of Passiflora setacea nectars	133
4.2.6.	Chemical analysis of Passiflora setacea nectars.....	134
4.2.7.	Consumers' Acceptance and CATA tests.....	134
4.2.8.	Consumers characterization.....	135
4.2.9.	Statistical analysis	136
4.3.	RESULTS AND DISCUSSION	137
4.3.1.	Geographic and environmental conditions	137
4.3.2.	Variation in physical-chemical quality	139
4.3.3.	Phytochemical composition of Passiflora setacea nectars	140
4.3.4.	Consumer Overall Liking Scores	142
4.3.5.	Check-All-That-Apply (CATA).....	144
4.3.6.	Consumers characterization.....	149
4.4.	CONCLUSION	152
	Acknowledgements	153
4.5.	REFERENCES.....	154
5.	CAPÍTULO 5 - CONSIDERAÇÕES FINAIS	159
	REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	214

LISTA DE ANEXOS

Anexo 1- CROQUI DO EXPERIMENTO.....	163
Anexo 2- DETERMINAÇÃO DE PH EM POLPAS DE FRUTAS	164
Anexo 3- DETERMINAÇÃO DE ACIDEZ TOTAL TITULAVEL EM POLPAS DE FRUTA.....	165
Anexo 4- DETERMINAÇÃO DE SÓLIDOS SOLÚVEIS TOTAIS EM POLPAS DE FRUTAS	167
Anexo 5- DETERMINAÇÃO DE CAROTENOIDES TOTAIS	168
Anexo 6- DETERMINAÇÃO DE VITAMINA C	171
Anexo 7- DETERMINAÇÃO DE FLAVONÓIDES TOTAIS	176
Anexo 8- PREPARO DE EXTRATOS	179
Anexo 9- ANÁLISE DE FENÓLICOS TOTAIS.....	181
Anexo 10- DETERMINAÇÃO COLORIMÉTRICA DE PROANTOCIANIDINAS PELO MÉTODO DMAC.....	184
Anexo 11- ANÁLISE DA ATIVIDADE ANTIOXIDANTE TOTAL POR DPPH	186
Anexo 12- ANÁLISE DE ATIVIDADE ANTIOXIDANTE TOTAL POR FRAP	190
Anexo 13- QUANTIFICAÇÃO DE FLAVONOIDES POR HPLC/CLAE.....	194
Anexo 14- LIMIAR DE DETECÇÃO GOSTO DOCE	198
Anexo 15- TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO	200
Anexo 16- FICHA DE RECRUTAMENTO	202
Anexo 17- FORMULÁRIO DE ANÁLISE SENSORIAL	204
Anexo 18- FORMULÁRIO GOOGLE – COLETA DE DADOS DE AVALIADORES .	206

INTRODUÇÃO

O mercado de alimentos funcionais e a demanda por produtos nutraceuticos inovadores têm crescido em todo o mundo. Alimentos funcionais são alimentos ou ingredientes que produzem efeitos metabólicos ou fisiológicos benéficos à saúde, além de suas funções nutricionais básicas, podendo desempenhar um papel potencialmente benéfico na saúde, seja melhorando as condições físicas gerais, seja reduzindo o risco de doenças (Anvisa; Diplock *et al.*, 1999; Siro *et al.*, 2008; Pineli., 2009). Cabe ressaltar que o mercado de alimentos funcionais ou nutracêuticos, cujos termos podem ser usados como sinônimos, ainda não estão bem regulamentados (Bagchi, 2006; Pineli., 2009).

O interesse do consumidor por produtos saudáveis e a sua preocupação com a dieta aumentou substancialmente em todo o mundo. Atualmente, há um maior conhecimento de que é possível reduzir o risco de doenças e manter uma melhor qualidade de vida por meio da alimentação e de um estilo de vida saudáveis. Simultaneamente, os consumidores procuram pela conveniência que produtos industrializados prontos para o consumo oferecem, o que está associado ao aumento da procura por bebidas nutracêuticas como águas vitaminadas, bebidas energéticas para atletas, suplementos dietéticos líquidos, misturas de suco de frutas antioxidantes e bebidas prontas para beber (RTD), que oferecem oportunidades de crescimento mercadológico significativas (Bourne Partners, 2017).

Sabe-se que o Brasil é detentor de grande biodiversidade do planeta, sendo o maior produtor mundial de maracujás. O gênero *Passiflora* apresenta um grande potencial para a processamento de seus frutos na agroindústria (Lessa, 2011). A principal espécie comercialmente cultivada no Brasil é o maracujá amarelo (*P. edulis* Sims f. *flavicarpa* Deg), também conhecido como “maracujá azedo”. Esse maracujá é

originariamente brasileiro (Hafle *et al.*, 2009) e representa 95% dos pomares do país, graças à qualidade dos seus frutos (Madalena *et al.*, 2013). Das mais de 150 espécies encontradas no Brasil, 50% apresentam frutos comestíveis. Assim, o potencial relativo à diversidade de maracujás nativos encontra-se ainda largamente inexplorado. Apesar da imensa variedade de sabores e aromas, a maioria dos frutos comestíveis de maracujá são desconhecidos fora das áreas onde são cultivados (Bomtempo *et al.*, 2016).

No Cerrado há várias espécies de maracujazeiros em estado silvestre. Em levantamento realizado pela Embrapa Cerrados, constatou-se, até 2005, a existência de mais de 40 espécies de *Passifloras* vegetando em estado silvestre no Cerrado. Dessas, as mais conhecidas são a *Passiflora cincinnata*, *Passiflora alata*, *Passiflora nítida*, *Passiflora quadrangulares* e *Passiflora setacea* (Faleiro, F. G. et al., 2005).

A *Passiflora setacea* é nativa do Cerrado e possui polpa de coloração amarelo clara, adocicada e pouco ácida, podendo ser consumida *in natura*, na forma de refrescos ou em preparações mais elaboradas. Dentre seus componentes bioativos destacam-se os carotenoides, vitamina C e compostos fenólicos, principalmente flavonoides, como orientina, isorientina, vitexina, isovitexina (Wondracek *et al.*, 2011; Vieira, 2013; Gomes *et al.*, 2016), que estão associados à atividade antioxidante.

A composição química e as características sensoriais do fruto são influenciadas por condições edafoclimáticas, entre elas, fatores ambientais como chuvas, umidade, temperatura e exposição solar. Além do clima, condições de pré-colheita como o sistema de condução também podem levar a mudanças nas qualidades sensoriais e nutricionais da polpa.

Diante do exposto, visando o mercado de produtos funcionais, se faz necessário avaliar a qualidade fitoquímica e sensorial da *Passiflora setacea* nas

diferentes condições climáticas e sistemas de cultivo, visando a produção de frutos com maior qualidade sensorial e fitoquímica.

ESTRUTURA DA TESE

Esta tese está estruturada como descrito a seguir: no Capítulo 1 é apresentada a revisão de literatura com ênfase na contextualização da *Passiflora setacea*, considerando a biodiversidade do cerrado brasileiro; fatores edafoclimáticos e sua interferência nos compostos bioativos e análise sensorial de alimentos como ferramenta para avaliação da sua qualidade. Capítulo 2 com objetivos e materiais e métodos. Capítulo 3 com resultados, discussão e conclusão do experimento 1, que compôs o artigo original, intitulado **“Effect of training system and climate conditions on bioactive compounds of *Passiflora setacea*, a wild *Passiflora* from Brazilian savannah”**, submetido ao periódico “Food Chemistry”. Capítulo 4 com resultados, discussão e conclusão do experimento 2, que compôs a pesquisa apresentada em formato de um artigo original, intitulado **“Effect of training system and season on acceptability and sensory profile of *Passiflora setacea* nectars, a wild passion fruit from Brazilian savannah”**, submetido ao periódico “Journal of the Science of Food and Agriculture”. E, por fim, Capítulo 5, com as considerações finais da tese.

CAPÍTULO 1 - REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

1.1. Biodiversidade no Brasil: O Cerrado Brasileiro

O Brasil, país que possui 8,5 milhões de quilômetros quadrados, é o detentor da maior diversidade biológica do planeta (Leterme *et al.*, 2006). É dotado de enormes recursos naturais, possuindo mais de 40.000 espécies de plantas diferentes, representando 20% da flora mundial (Oliveira *et al.*, 2012).

O termo Biodiversidade é adotado pela Organização das Nações Unidas para Alimentação e Agricultura (FAO) para se referir a todos os aspectos da variabilidade evidente dentro do mundo vivo, incluindo diversidade dentro e entre indivíduos, populações, espécies, comunidades e ecossistemas (Fao, 2010). O importante papel da biodiversidade na sustentabilidade e segurança alimentar é defendido pela FAO, que afirma que de um total de 300 mil espécies de plantas, apenas 10 mil têm sido utilizadas para o consumo humano desde a origem da agricultura (Fao, 2010). Além disso, as espécies e variedades comumente consumidas não são necessariamente as mais ricas em conteúdo de nutrientes.

Espécies subutilizadas ou selvagens têm papéis importantes como recursos alimentares (Burlingame *et al.*, 2009), uma vez que os aspectos do clima e do solo em diferentes ecossistemas provocam a geração de uma grande diversidade química das plantas. Vivendo sob estresse, plantas desenvolvem e sobrevivem sob intensa competição por recursos e nutrientes. As espécies vegetais também precisam desenvolver uma variedade de defesas, a maioria na forma de compostos químicos para protegerem-se de vírus, bactérias e patógenos fúngicos, insetos e predadores de mamíferos (Nogueira *et al.*, 2010).

Os diversos biomas encontrados em nosso país abrigam uma biodiversidade ainda desconhecida e inexplorada, dentre eles o Bioma Cerrado, um dos mais

importantes da América do Sul e do Brasil, ocupa uma área de mais de dois milhões de quilômetros quadrados, possuindo mais de onze mil espécies de plantas nativas já catalogadas (Mma, 2017). O termo Cerrado é comumente utilizado para designar o conjunto de ecossistemas (savanas, matas, campos e matas de galeria) que ocorrem no Brasil Central (Roesler *et al.*, 2007). Este ecossistema é o segundo maior bioma brasileiro, com uma área que ocupa 23% do território nacional (Mma, 2017).

O clima do Cerrado é tipicamente sazonal, com um período chuvoso, que dura de outubro a março, seguido por um período seco, de abril a setembro. Na estação chuvosa, a precipitação média mensal é de 175 mm e as temperaturas são geralmente amenas ao longo do ano, entre 22° C e 27° C em média (Klink e Machado, 2005). Na estação seca, as chuvas são escassas ou ausentes. Agosto, setembro e outubro são os meses mais quentes, com temperaturas máximas de 29° C, enquanto os meses de junho e julho são os meses mais frios, atingindo temperaturas mínimas de 13° C e com temperaturas máximas de 26° C (Silva *et al.*, 2014).

A vegetação típica do Cerrado é bastante diversificada e consiste em um ecossistema da pastagem caracterizado por árvores pequenas, com ramificações irregulares, troncos retorcidos e cascas grossas. O solo é distrófico de baixo pH, baixa disponibilidade de cálcio e magnésio e alto teor de alumínio (Silva *et al.*, 1994; Figueiró *et al.*, 2012). As árvores são muito espaçadas, com isso a copa não se fecha, permitindo que a luminosidade atinja o chão. Forma-se assim uma camada herbácea contínua, consistindo principalmente de gramíneas e uma vegetação ribeirinha de matas ciliares ao longo dos cursos de água (Figueiró *et al.*, 2012).

A flora do Cerrado apresenta uma diversidade de fontes de compostos bioativos (Rocha, 2011), uma vez que as plantas adaptadas à sobrevivência às condições adversas do Cerrado como acidez do solo, a exposição excessiva à luz

solar e o fogo frequente durante a estação seca podem ter desenvolvido mecanismos moleculares eficientes de defesa contra os radicais livres durante o seu processo de evolução (Siqueira *et al.*, 2013).

Os frutos do Cerrado podem apresentar alto teor de compostos bioativos tais como fenólicos, vitamina C e carotenoides, que quando consumidos podem exercer múltiplas ações benéficas no organismo, agindo como antioxidantes, anti-hipertensivos, anti-inflamatórios ou antimutagênicos, entre outros (De Souza *et al.*, 2012; Siqueira *et al.*, 2013) e, conseqüentemente, reduzindo o risco de doenças crônicas (Da Costa *et al.*, 2013; Formagio *et al.*, 2013; Malta *et al.*, 2013; Donado-Pestana *et al.*, 2015). Estudos recentes buscam a caracterização dos frutos do Cerrado pouco explorados com elucidação desses compostos (Abadio Finco *et al.*, 2012; Siqueira *et al.*, 2013; Alves *et al.*, 2017).

Apesar do Cerrado possuir uma abundância natural de frutas tropicais ricas em compostos de interesse para a saúde humana, a maioria das espécies não apresenta amplo consumo e comercialização, conseqüência da dificuldade de colocação dos frutos no mercado, em virtude da carência de informações apropriadas para a produção e pós-colheita (Leterme *et al.*, 2006; Abadio Finco *et al.*, 2012). Nesse contexto, destacam-se as espécies de passifloras, conhecidas no Brasil como maracujás.

1.2. *Passifloras*

O maracujazeiro é uma planta tropical da família Passifloraceae com ampla diversidade genética. Maracujá é o nome popular dado aos frutos de várias espécies do gênero *Passiflora*, que possui cerca de 500 espécies, sendo 150 delas nativas do Brasil (EL-MOOR *et al.*, 2006).

O Brasil é o principal produtor mundial do maracujá possuindo, em 2015, uma produção total de 694.539 toneladas (Ibge., 2016). A produção de maracujá vem ganhando importância no país, notadamente, a partir das últimas três décadas, o que coloca o Brasil em uma situação de destaque no *ranking* mundial. De acordo com o Banco de Dados do IBGE (2016), a Bahia é o maior estado produtor de maracujá, sendo responsável por 42% da produção brasileira. A espécie mais cultivada é o maracujazeiro-azedo (*Passiflora edulis* Sims) e compreendem 95% da produção de maracujás (Hafle *et al.*, 2009). Os outros 5% correspondem a outras espécies de passifloras, principalmente o maracujá doce (*Passiflora alata* Curtis) e mais recentemente o *P. setacea* e *P. cincinnata*.

O maracujá-azedo e o maracujá-roxo, também pertencentes à espécie *Passiflora edulis* Sims, representam 95% da produção de maracujás (Hafle *et al.*, 2009). Os outros 5% correspondem a outras espécies de *Passifloras* que são desconhecidas fora das áreas onde crescem de forma selvagem, ou são pouco cultivadas. Boa parte das espécies de maracujá silvestres estão presentes no Cerrado. Em levantamento realizado pela Embrapa Cerrados, constatou-se a existência de mais de 40 espécies de *Passifloras*, vegetando em estado silvestre no Cerrado. Dessas, as mais conhecidas são a *Passiflora cincinnata*, *Passiflora alata*, *Passiflora setacea*, *Passiflora nitida*, *Passiflora serrato-digitata* e *Passiflora quadrangularis* (Faleiro, F.G. *et al.*, 2005).

As doenças e pragas são os principais fatores que limitam a expansão e produtividade da cultura de maracujá-azedo e do maracujá-doce no país. Apesar do país ser o maior produtor mundial, existe demanda internacional para uma maior produção, já que o mercado interno absorve mais de 90% da produção anual (Meletti, 2011).

A exploração de cultivares silvestres, que são naturalmente mais resistentes a pragas e patologias típicas do maracujazeiro-azedo, é estratégica no contexto de expansão e sustentabilidade do agronegócio. O uso comercial de espécies silvestres é limitado em função da falta de informações sobre o comportamento dessas plantas nas diferentes condições climáticas de cultivo e nas diferentes regiões produtoras sob o ponto de vista da produtividade e da qualidade do fruto, além do potencial uso como fonte de compostos bioativos atendendo às indústrias de produtos funcionais e fármacos fitoterápicos (Junghans e Jesus, 2017).

1.3. *Passiflora setacea*

A espécie *Passiflora setacea* DC. é nativa do Bioma Cerrado, sendo encontrada principalmente nas regiões de Goiás, Minas Gerais e Bahia, nas matas de transição Cerrado-Caatinga e na Mata Atlântica, sendo comum em áreas de grande incidência solar (Lessa, 2011; Madalena *et al.*, 2013). A espécie *Passiflora setacea* DC. foi descrita em 1828. O epíteto específico *setacea* vem do latim porque as plantas dessa espécie apresentam estípulas setáceas, ou seja, em forma de seta (Cervi, 2005).

Popularmente é conhecida como maracujá-sururuca, maracujá-do-Cerrado ou maracujá-do-sono, pois a polpa dos frutos, segundo o uso popular, ajudaria a prevenir problemas de insônia. A ramagem das folhas é vigorosa e as flores são brancas, com antese após as 18h.

Quando maduros, os frutos apresentam variação de 50 a 120 gramas, com tamanho de 5 a 6 cm de comprimento e 4 a 5 cm de largura. Possuem casca verde-claro com listras verde-escuro em sentido longitudinal da base ao ápice do fruto. A polpa, de cor amarelo-claro ou creme, representa 30 a 38% da massa total do fruto e tem sabor agradável e adocicado (Campos, 2010; Wondracek *et al.*, 2011). As

sementes, que representam cerca de 20-30% do peso do fruto, são ovaladas e de tamanho reduzido quando comparadas às outras passifloráceas (Ataíde *et al.*, 2012; Costa *et al.*, 2014).

Segundo Ataíde *et al.* (2012), a incorporação da *P. setacea* no mercado consumidor é recomendada tanto pelo seu potencial como fruta fresca, devido ao sabor exótico, doce e saboroso do fruto e pelas suas propriedades medicinais. A *P. setacea* se caracteriza pela sua rusticidade em relação a resistência a patógenos que atacam os frutos (Braga *et al.*, 2006), com tolerância à bacteriose, antracnose e verrugose que acometem o maracujá-amarelo, mas suscetível ao nematoide *Meloidogyne incognita*. Outra vantagem da *P. setacea* é a floração durante todo o ano, inclusive no período de junho a setembro, período de entressafra do maracujazeiro azedo (Ataíde *et al.*, 2012).

Campos (2010) analisou as características físico-químicas de polpa de *P. setacea* cultivadas na Embrapa Cerrados localizada em Planaltina – DF e observaram que os frutos apresentaram peso de 47g, rendimento da polpa de 35%, SST de 16,5° Brix. Ataíde *et al.* (2012) avaliaram frutos de *P. setacea* cultivados no Banco de Germoplasma de maracujazeiro do Departamento de Fitotecnia da UNESP, em Jaboticabal-SP, e apresentaram resultados semelhantes (peso médio de 46,10g, com rendimento de polpa de 34,5% e teor de sólidos solúveis totais (SST) de 16,5 °Brix).. O valor de STT foi superior ao observado por Viana *et al.* (2016) (13,57 °Brix) na mesma variedade. Já os valores de pH (3,15 e 3,43) e acidez titulável total (ATT) (2,67% e 2,92% de equivalente de ácido cítrico) foram semelhantes nos trabalhos de Campos (2010) e Viana *et al.* (2016).

Com a finalidade de gerar variedades mais produtivas com padrão de aceitação de mercado, a *P. setacea* atualmente faz parte dos programas de

melhoramento genético da Embrapa Cerrados, que lançou, por meio da rede Passitec, por seleção massal e policruzamento entre plantas selecionadas para o aumento da produtividade, tamanho do fruto e resistência a doenças, a variedade BRS Pérola do Cerrado (*Passiflora setacea* BRS-PC). A BRS Pérola do Cerrado é a primeira cultivar registrada (RNC nº 21714) e protegida (SNPC 20120197) no ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (Costa *et al.*, 2016; Rinaldi *et al.*, 2017). Segundo Meletti (2001), o teor de sólidos solúveis (%) desejável pela indústria é de, no mínimo 13 e o valor de acidez titulável (%) acima de 3,0, resultando em um ratio (SST/ATT) próximo a 4,0.

Em relação à composição nutricional média, a polpa de *P. setacea* BRS-PC apresentou quantidade de proteínas de 0,95 g/100g, gordura total de 0,48 g/100g, carboidratos de 16,4g/100g; além de 1,5g/100g de fibras, 0,68% de cinzas, com um valor calórico total de 86,8Kcal/100g (Viana *et al.*, 2016). Quando comparada à polpa de maracujá-azedo (*P. edulis* Sims.), a polpa de *P. setacea* BRS-PC possui 1,7 vezes mais carboidratos, duas vezes mais lipídios e três vezes mais fibras (Unicamp, 2011; Viana *et al.*, 2016). Lopes *et al.* (2010) analisaram o perfil de ácidos graxos de sementes de *P. setacea* BRS-PC e encontrou entre 31,3 a 33,5 % de gorduras totais, sendo que o óleo de semente de *P. setacea* apresentou 64,7% de ácido linoleico, 19,7% de ácido oleico e 10,2% de ácido palmítico.

Com relação à composição em compostos bioativos, a tabela 1 apresenta os dados encontrados na literatura. O teor de fenólicos totais em polpa de *P. setacea* por Lessa (2011) foi de 210,85 mg de ácido gálico/100g, valor superior ao encontrado por Vieira (2013) (140 mg/100g) em polpa de *P. setacea* BRS-PC.

Quanto à vitamina C, 100g de polpa de *P. setacea* possuem entre 20 mg/100g (Sozo, 2014) e 65 mg/100g (Costa, A. M. C. *et al.*, 2008) na polpa fresca ou base

úmida (BU).

Lessa (2011) relatou conteúdos de carotenoides totais de 0,69 mg β -caroteno por 100g em polpa de *P. setacea*, superiores ao da *P. edulis* f. *flavicarpa* que apresentou teor médio de 0,29 mg β -caroteno/100g (LESSA, 2011). Wondracek *et al.* (2011) encontraram teor de provitamina A no valor de 5,5 μ g/g equivalentes de retinol em *P. setacea* BRS-PC e 0,66 μ g/g de trans-betacaroteno.

O teor encontrado de proantocianidina pelo método DMAC (4-dimethylaminocinnamaldehyde) foi de 61,4mg equivalente de procianidina B2/g de amostra (BS) de polpa de *P. setacea* (Vieira, 2013). Quanto a atividade antioxidante em polpas de *P. setacea*, Vieira (2013) relata uma atividade antioxidante de 4,9 μ mol de trolox equivalente por 100 gramas (μ mol TE/100g) pelo método DPPH e 530 mmol de TE/100g pelo método FRAP ("ferric reducing antioxidant power assay"). Os estudos de Sozo (2014) e Gadioli (2017) apresentaram seus resultados de DPPH em percentual de inibição, não sendo possível a comparação entre os autores em função dos resultados serem expressos em unidades de medida diferentes. Os diferentes métodos de extração e fatores climáticos também podem interferir nos resultados, dificultando as comparações.

Tabela 1. Composição em compostos bioativos e atividade antioxidante de variedades de *Passiflora setacea*- Dados da literatura em base seca (BS) ou base úmida (BU).

<i>Passiflora</i>	Polifenóis	Vitamina C	Vitamina A	Flavonoides totais	DPPH	FRAP	Proantocianidinas (Taninos condensados)	Referência
<i>P. setacea</i> BRS-PC	65 mg AGE /100g BU	56 mg/100g BU	-	-	-	-	-	(Costa, A. M. <i>et al.</i> , 2008)
<i>P. setacea</i> (coleção de germoplasma)	-	-	5,50 µg/g 0,55 µg/g de betacaroteno	-	-	-	-	(Wondracek <i>et al.</i> , 2011)
<i>P. setacea</i> produzidas na região Sudoeste da Bahia	210 mg AGE /100g BU	-	0,069 µg β-caroteno/g BU	-	-	-	-	(Lessa, 2011)
<i>P. setacea</i> BRS-PC	13,3 mg AGE/100g BS	20 BU	-	0,29 BS	85,6% (percentual de inibição)	-	-	(Sozo, 2014)
<i>P. setacea</i> produzidas na região Sudoeste da Bahia	-	29,6 mg/100g BU	291 µg/g BU	-	-	-	-	(Pereira <i>et al.</i> , 2014)
<i>P. setacea</i> BRS-PC	140 mg CE/100g BS	-	-	-	4,9 µmols TE/100g BS	530 mmol TE/100gBS	61,4 mg/g BS	(Vieira, 2013)

A partir dos dados de compostos bioativos da polpa de *Passiflora setacea*, é possível observar que existem variações nos teores que podem ser decorrentes de variações do perfil genético do material estudado ou da influência do ambiente de cultivo indicando a necessidade de estudos que analisem sistematicamente a influência de fatores edafoclimáticos na expressão de bioativos.

1.4. Ecofisiologia do maracujazeiro

1.4.1. Fatores climáticos

Um dos fatores limitantes para a evolução do mercado de *Passifloras* nos países produtores é a carência de conhecimento na área da Ecofisiologia, devido à falta de pesquisa estruturada nesta área (Fischer *et al.*, 2009). Ecofisiologia é o estudo da resposta fisiológica das plantas frente ao ambiente químico, físico e biológico circundante (Lambers *et al.*, 2008). O ambiente tem um efeito marcado sobre a expressão do genótipo e, portanto, a provisão de um ambiente favorável ao cultivo é uma condição muito importante para alcançar altos rendimentos e melhor qualidade da fruta, tanto sob o ponto de vista sensorial, quanto em relação à sua composição em compostos bioativos.

As espécies de maracujazeiro são plantas de clima tropical, com ampla distribuição geográfica, bem adaptada às condições ecológicas do Brasil para seu cultivo. Segundo Guimarães *et al.* (2013), a *P. setacea* é uma fruteira tropical que necessita de temperaturas elevadas, em torno de 23 a 25° C e de boa disponibilidade hídrica. Lima (2006) acrescenta que os maracujazeiros possuem preferência por umidade relativa baixa e precipitação em torno de 800 a 1.700 mm anuais, com desenvolvimento em regiões com altitude entre 100 e 900 metros. Já Fischer *et al.* (2009) afirmam que o crescimento ótimo do maracujá está entre 20 e 30° C, em alta umidade e que, nos trópicos equatoriais, é possível o cultivo de *Passifloras* do nível

do mar até 3200 m de altitude. Esses autores afirmam que chuvas intensas e ventos frios são prejudiciais ao maracujazeiro no período de floração por dificultar a polinização e o florescimento.

As divergências nas recomendações agroecológicas provavelmente se relacionam ao fato da terminologia maracujá ou *passion fruit* ser utilizada simultaneamente para várias espécies do gênero *passiflora* (Fischer *et al.*, 2009).

A temperatura do cultivo está diretamente relacionada a sua produtividade. De maneira geral, para uma mesma intensidade luminosa, a taxa fotossintética é maior à medida que aumenta a temperatura. Para a maioria das espécies tropicais, a fotossíntese líquida aumenta entre 5 e 30°C (Kaiser *et al.*, 2014). Além do mais, a temperatura afeta a produção de frutos pois influencia indiretamente o comportamento dos agentes polinizadores. Temperaturas entre 20 e 25°C favorecem a produtividade por estímulo à polinização enquanto temperaturas inferiores à ideal promovem uma vida vegetal mais longa, mas com crescimento lento e baixa produção (Fischer *et al.*, 2009). Temperaturas excessivas reduzem a taxa fotossintética, provavelmente pelo fato do calor excessivo causar danos às enzimas do aparelho fotossintético. Altas temperaturas causam ainda murchamento dos frutos e diminuem a quantidade e a qualidade dos frutos produzidos (Embrapa, 2006)

O requerimento térmico das plantas está relacionado a componentes genéticos determinantes da presença ou ausência de enzimas específicas relacionadas a adaptações fisiológicas ou processos fisiológicos específicos. O acúmulo de calor, expresso em unidades de calor ou graus-dia (GD), pode ser um índice de maturidade para a maturação do fruto. As unidades de calor são calculadas multiplicando o número de dias pela diferença na temperatura média com mínimo necessário para o crescimento vegetativo (ou temperatura basal) (Villa Nova *et al.*,

1972).

Para o maracujazeiro, poucas são as informações disponíveis na literatura sobre as exigências térmicas dos frutos. Neves *et al.* (1999) *apud* Vianna-Silva *et al.* (2008) utilizaram a temperatura basal de 10°C para frutos de maracujazeiro amarelo, encontrando o requerimento térmico entre 867 GD e 861 GD entre o florescimento e a frutificação. Salazar (2013) encontrou requerimento térmico de 1025 GD entre o plantio e a primeira floração para *Passiflora edulis Sims* enxertadas na própria espécie e 1717 GD no pé franco (sem enxertia), na região de Viçosa, Minas Gerais. O autor considerou a temperatura basal de 10° C.

A radiação solar pode ser estudada em relação à duração (ou fotoperíodo), intensidade (irradiação) e qualidade da luz (comprimento de onda). Segundo Didier (2001), o maracujazeiro precisa de 10 a 11 horas de luz por dia para florescer e, conseqüentemente, frutificar, sendo que a formação de flor é inibida com menos de 8 horas de luz por dia. A radiação solar, devido ao seu papel na fotossíntese, está dentro dos fatores climáticos que mais fortemente influenciam a qualidade da fruta quanto aos seus processos fisiológicos afetando o tamanho e a qualidade de frutas em relação ao seu metabolismo primário e secundário. Intensidades luminosas mais elevadas, favorecem a expressão de pigmentos protetores em cloroplastos, como carotenos e compostos flavonoides epidérmicos que absorvem luz UV (Gautier *et al.*, 2008; Verzera *et al.*, 2016)

O abastecimento de água adequado é essencial para o bom desenvolvimento das *Passifloras*, especialmente após o plantio e durante a época de floração. Um abastecimento equilibrado de água garante um bom equilíbrio de carboidratos e ácidos na fruta madura e uma menor taxa de degradação durante as fases pós-colheita. O déficit hídrico reduz o crescimento foliar podendo levar à redução da

floração, redução do tamanho dos frutos, queda dos frutos, e, em casos extremos, perda das folhas (Fischer, 2005). Em ambientes com déficit de chuvas e baixos níveis de umidade, a redução da absorção de água provoca imediatamente o fechamento dos estômatos. Isso evita a entrada de CO₂ na folha e, portanto, a fotossíntese é interrompida. Pode então haver murchidão permanente, ou redução da produção de metabólitos. Além disso, a disfunção fisiológica causada por estresse ambiental severo ou ataque por insetos ou patógenos contribui para a morte de plantas. Assim, em ambiente com estresse hídrico severo, são necessários sistemas de irrigação.

Cavalcante *et al.* (2001), ao estudarem o efeito do estresse hídrico sobre o maracujazeiro amarelo, verificaram que a suspensão da rega das plantas por sete dias aumentou significativamente a resistência difusiva, a transpiração e a temperatura foliar. A alta resistência difusiva indica o fechamento estomático, o qual torna mais lenta a perda do vapor d'água, reduz a absorção de CO₂ e, conseqüentemente, a fotossíntese (Nogueira e Santos, 2000). A restrição hídrica também limitou a produção de folhas e a área foliar, que é representada pela superfície fotossinteticamente ativa (Cavalcante *et al.*, 2001)

Na planta, a água é essencial por ser elemento principal do protoplasma (80 a 90% de peso fresco), por ser solvente, meio para reações químicas do metabolismo, além de manter o turgor da planta (Taiz e Zeiger, 2013). Quando em excesso, a chuva, assim como os ventos fortes, além de diminuir a atividade dos agentes polinizadores, pode promover perda da floração, amolecimento do mesocarpo dos frutos que resistirem às chuvas abundantes, além de favorecer doenças de raiz (Fischer *et al.*, 2009).

Na espécie das passifloráceas, com o florescimento e a frutificação ao longo de todo o ano, a precipitação deve ser bem distribuída em todos os meses ou deve

haver irrigação adicional. Em casos de estresse hídrico em fases críticas, como no surgimento de brotos florais, fertilização e crescimento de frutos, os frutos permanecem pequenos ou caem. O estado de maior demanda de água pela fruta é durante o crescimento. Durante a maturação, a água é necessária em menor grau. Em excesso, a chuva diminui a atividade de polinizadores (Fischer, 2005).

Quanto à umidade relativa do ar, valores entre 65 e 75% estão adequados. Acima disso, aumenta-se a susceptibilidade às doenças. Quando abaixo de 40%, a umidade pode causar murchamento dos frutos e morte de brotos jovens (Fischer *et al.*, 2009).

O maracujazeiro se desenvolve em praticamente todos os tipos de solo, restringindo-se apenas aos muito arenosos ou muito argilosos. Solos muito argilosos estão sujeitos a encharcamentos, que não são tolerados pela planta uma vez que o excesso de água inibe o desenvolvimento das raízes. O plantio deve ser feito em área de solos com profundidade superior a 60cm (Embrapa, 2006).

1.4.2. Sistemas de condução

Por ser uma planta trepadeira, o maracujazeiro necessita de suporte para proporcionar uma boa distribuição dos ramos e garantir assim, maior produção de frutos (Komuro, 2008).

Sistema de suporte ou sistema de condução é a manipulação física da forma de uma planta (Reynolds e Heuvel, 2009). O espaço ocupado pela folhagem determina o potencial de captura de recursos e as trocas com a atmosfera que, por sua vez, se relacionam com os processos biológicos de fotossíntese e crescimento (Rosell e Sanz, 2012).

Em cultivos de maracujá, um sistema de suporte permite melhores condições de luminosidade, aeração e melhor manejo de pragas e doenças (Miranda, 2009). O

suporte de sustentação do maracujazeiro pode ser um tutor vivo, como uma árvore (goiabeira, cajueiro, etc.) sobre a qual o maracujazeiro cresce desordenadamente cobrindo a copa da árvore, ou um sistema de condução estruturado (Komuro, 2008).

Os sistemas de condução mais utilizados são o de espaldeira vertical e o sistema de latada ou caramanchão (Miranda, 2009). Em ambos, um único broto deverá ser conduzido através de um tutoramento até o arame situado no topo dos mourões para a formação natural da ramagem (Komuro, 2008).

A espaldeira vertical consiste em uma cerca, formada por uma sequência de postes de madeira ou concreto com 2,5 metros de comprimento, unidos entre eles por um ou dois fios que servirão de sustentação para a planta (Figura 1). Para que os postes fiquem firmes e possam sustentar a massa vegetativa, recomenda-se enterrá-los em buracos de 50 cm de profundidade. Nas extremidades da espaldeira (linha de plantio) são utilizadas escoras de sustentação, afixadas com uma inclinação para fora da espaldeira, formando um ângulo de aproximadamente 60° em relação ao solo (Costa, A. M. *et al.*, 2008).

O espaçamento entre fileiras de plantas poderá variar de 2,0 a 4,0 m, a depender da mecanização da colheita (Guimarães *et al.*, 2013). Para lavouras mecanizadas, utiliza-se distâncias maiores enquanto para cultivo manual, esta distância pode ser reduzida a 2,5 m. O comprimento das linhas não deve ser superior a 60 m, para possibilitar a mobilização dentro do pomar (Komuro, 2008).

Os postes ou mourões são conectados por um, dois ou mais fios de arame galvanizado, sendo que o fio superior deve ficar a 2 m do solo e os demais espaçados entre si de 40 cm. O uso de apenas um fio de arame é mais comum por ser mais econômico. A adição de mais fios ou de malha de polietileno pode favorecer a exposição ao sol, aumentando a produção (Guimarães *et al.*, 2013). Segundo Miranda

(2009), no sistema espaldeira se obtém menor rendimento e qualidade da fruta. Neste sistema, os frutos, por estarem mais expostos, são mais sujeitos a queimaduras de Sol.

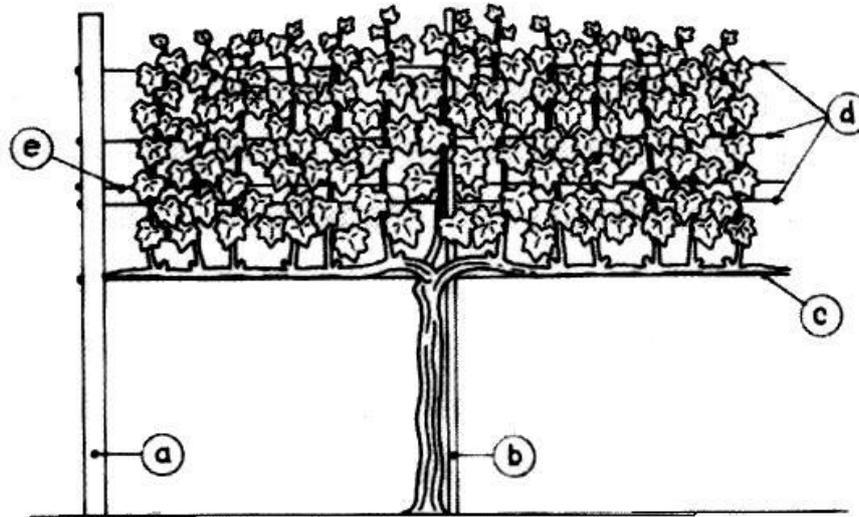


Figura 1. Sistema de condução Espaldeira

Fonte: Miele e Mandelli (2016)

O sistema de condução do maracujá em latada (caramanchão, parreira, ou sistema de condução na horizontal) é muito utilizado nos plantios domésticos, em quintais e chácaras, com o objetivo de se ter um local sombreado (Komuro, 2008).

Existem muitas formas de estruturação do sistema latada (Miranda, 2009). O sistema latada apresentado por Komuro (2008) se trata de uma sequência de quatro postes espaçados entre si de 4 a 6 m, que formam os módulos quadrados. Os módulos podem ser unidos até o comprimento de 60 m, quando recomenda-se separá-los, deixando-se um espaço de 10 m entre as fileiras (Komuro, 2008). Estes postes devem ter altura livre de 1,8 a 2,0 m, para que seja possível transitar por baixo do teto formado pelas plantas, que irão sustentar-se em arames ligados aos postes paralelamente. Adicionalmente, podem ser instalados arames no sentido transversal e longitudinal, com espaçamento de 1 m. Forma-se, assim, um “telhado”, semelhante ao sistema

utilizado para uvas (Komuro, 2008).

Segundo Vasconcelos & Duarte Filho (2000), o sistema de condução em latada possui vantagens no que se refere à produtividade. Como as folhas ficam expostas diretamente à radiação solar, há uma maior taxa fotossintética, com reflexos positivos na produção (Costa *et al.*, 2013). Permite uma área vegetativa densa e, com isso, os frutos não ficam expostos diretamente aos raios solares (Miele e Mandelli, 2016).

Como desvantagens, o sistema latada apresenta impossibilidade de colheita mecânica e dificuldades quanto às práticas culturais (poda e aplicação de defensivos), o que aumenta os custos com mão de obra e maior susceptibilidade a doenças, devido a dificuldades na aplicação de defensivos (Komuro, 2008). Além disso, o sombreamento causado pelo vigor vegetativo pode causar danos à qualidade do fruto (Miele e Mandelli, 2016).

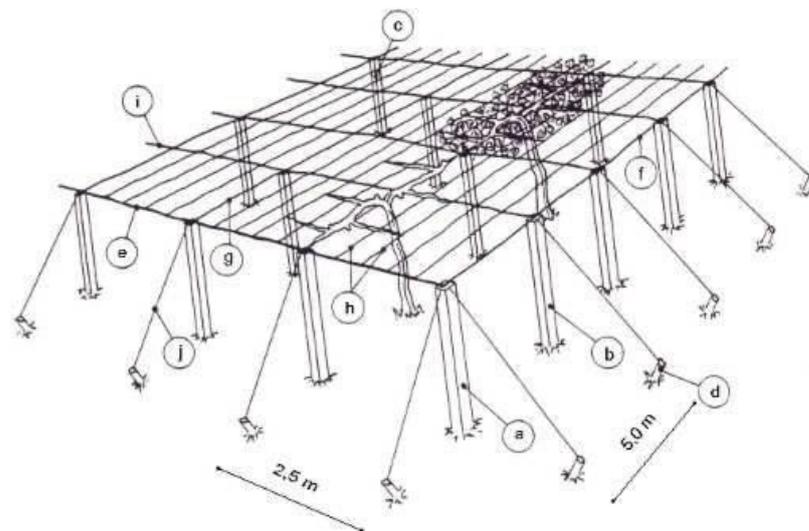


Figura 2. Sistema de condução Latada

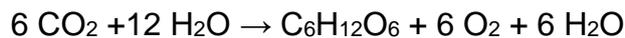
Fonte: Miele e Mandelli (2016)

Estima-se que a produtividade da *P. setacea* cultivada no sistema de condução em espaldeira seja de 25 t/ha/ano a 28 t/ha/ano. Já na condução em latada,

devido a melhor distribuição dos ramos, a produtividade potencial pode chegar a 35 ton/ha/ano (Guimarães *et al.*, 2013). Além da produtividade, as características físicas (peso do fruto, os diâmetros longitudinal e transversal e resistência da polpa) de frutos de maracujá podem variar conforme o manejo adotado.

1.4.3. Metabolismo secundário

Plantas e cianobactérias são seres foto autotróficos, pois sintetizam compostos orgânicos para produzir sua estrutura celular a partir da captura da energia da luz do sol. Esse processo, chamado fotossíntese, envolve transformação de energia radiante ou eletromagnética em energia química, com transporte de elétrons e síntese de ATP (Taiz e Zeiger, 2013) e é fortemente influenciada por fatores eco fisiológicos. A equação geral da fotossíntese, representada abaixo, descreve uma reação de oxirredução na qual a H₂O doa elétrons (como o hidrogênio) para a redução de CO₂ a carboidrato e liberação de oxigênio (Lehninger *et al.*, 2011).



Através da fotossíntese, as plantas sintetizam carboidratos, proteínas, lipídios e ácidos nucleicos por um conjunto de reações denominadas metabolismo primário. Além de produzir compostos orgânicos primários, que servirão de alimento para outros organismos, as plantas são também fontes de componentes bioativos naturais conhecidos como fitos químicos ou metabólitos secundários. Os metabólitos secundários apresentam distribuição restrita ao reino vegetal. Podem ser definidos como compostos biologicamente ativos encontrados naturalmente em plantas e que têm a função de protegê-las da herbivoria, de infecções causadas por microrganismos patogênicos e outros danos causados por fatores ambientais como poluição, estresse, restrição hídrica e exposição a raios ultravioleta (Petrucci *et al.*, 2013). Os metabólitos secundários também agem como atrativos para animais polinizadores e dispersores

de sementes, por isso contribuírem com a cor, aroma e sabor das plantas (Taiz e Zeiger, 2013). Estes compostos, quando consumidos na dieta, apresentam propriedades biológicas como atividade antioxidante, efeito antimicrobiano, modulação enzimática, estimulação do sistema imune e propriedades anticâncer (Saxena *et al.*, 2013)

Os metabólitos secundários podem ser divididos em três grupos distintos: terpenos, compostos fenólicos e compostos nitrogenados, todos eles oriundos do metabolismo primário, como apresentado na Figura 3. Os compostos fenólicos são biossintetizados a partir de diferentes rotas, razão pela qual constituem um grupo bastante heterogêneo. No entanto, duas rotas principais estão envolvidas na sua síntese: a rota do ácido shikímico (*shikimate*) e a rota do ácido malônico (*mevalonic acid*), ambas derivadas do metabolismo primário. Metabólitos dos processos fundamentais fotossíntese, glicólise¹ e ciclo de Krebs² são desviados da geração de energia para gerar compostos fenólicos ou polifenóis.

O termo “polifenóis” é utilizado para designar compostos que vão desde simples ácidos fenólicos a taninos condensados altamente polimerizados, com várias unidades de carbonos (Almeida, 2017). Considerando-se os polifenóis, sabe-se que as plantas produzem uma grande variedade de produtos secundários que possuem um grupo fenol, ou seja, uma função orgânica caracterizada por uma ou mais hidroxilas (OH) ligadas a um anel aromático (ou anel benzênico), que caracterizam

¹ A glicose não é usada apenas para produção de energia na forma de ATP. Ela é também um precursor de uma variedade de intermediários metabólicos. Em animais e vegetais a glicose pode ser usada na síntese de polissacarídeos, pode ser armazenada nas células na forma de polissacarídeo ou sacarose, pode ser oxidada a piruvato por meio da glicólise ou ser oxidada pela via das pentoses produzindo ribose-5-fosfato para a síntese de ácidos nucleicos. O piruvato proveniente da glicose pode ser usado para gerar acetil CoA, que pode ser usado como precursor de metabólitos secundários ou pode ser oxidado no ciclo de Krebs (que transforma Acetil-CoA em CO₂). O Piruvato pode ser usado ainda para síntese de aminoácidos ou síntese de ácidos graxos. A via metabólica completa da glicólise é: glicose → glicose-6-fosfato → Frutose-6-fosfato → frutose 1,6 bifosfato → gliceraldeído-3-fosfato → dihidroxiacetona-fosfato → gliceraldeído 2 fosfato → 1,3 bifosfoglicerato → 3 fosfoglicerato → 2 fosfoglicerato → fosfoenolpiruvato → piruvato → Acetil CoA + CO₂ (Lehninger *et al.*, 2011).

² O ciclo de Krebs transforma Acetil-CoA em CO₂.

estes compostos. Estas moléculas, pela grande quantidade de grupamentos hidroxila, de insaturações e anéis, podem agir como antioxidantes, por eliminação dos radicais livres atuando como agentes redutores, doadores de hidrogênio e quelantes de metais (Kumar e Pandey, 2013). Quando ingeridos, os polifenóis são eficazes para prevenir a oxidação de biomoléculas, que afeta diretamente a homeostase do organismo, trazendo benefícios à saúde (Lago *et al.*, 2014).

Os metabólitos intermediários mais importantes na biossíntese dos polifenóis secundários são acetil coenzima A (acetil-CoA), ácido shikimico, ácido mevalônico e 5-fosfatodesoxixilulose. Estes são utilizados respectivamente nas vias do acetato, shikimato, mevalonato e desoxixilulose 5-fosfato, que constituem a base dos compostos secundários. O acetil-CoA é formado por descarboxilação oxidativa da via glicolítica a partir de ácido pirúvico e por β -oxidação de ácidos graxos. Acetil-CoA forma metabólitos secundários importantes como fenóis e prostaglandinas. O ácido Shikimico é produzido a partir de uma combinação de fosfoenolpiruvato, um intermediário de via glicolítica, e eritrose 4-fosfato, do ciclo da via das pentoses fosfato, formando uma variedade de fenóis, derivados de ácido cinâmico, lignanos e alcaloides. A via shikimate fornece uma via alternativa para os aminoácidos aromáticos L-fenilalanina, L-tirosina e L-triptofano (Dewick, 2009). Fenilalanina e tirosina constituem a base C_6C_3 das unidades fenilpropanol encontradas em muitos produtos naturais como ácidos cinâmico, lignanas e flavonoides, sendo encontrado no ácido benzóico simples e ácido gálico. De acordo com a via biosintética dos compostos fenólicos começa com o ácido cinâmico, que direciona o fluxo de carbono da via shikimate para os vários ramos da síntese de compostos fenólicos (Vogt, 2010).

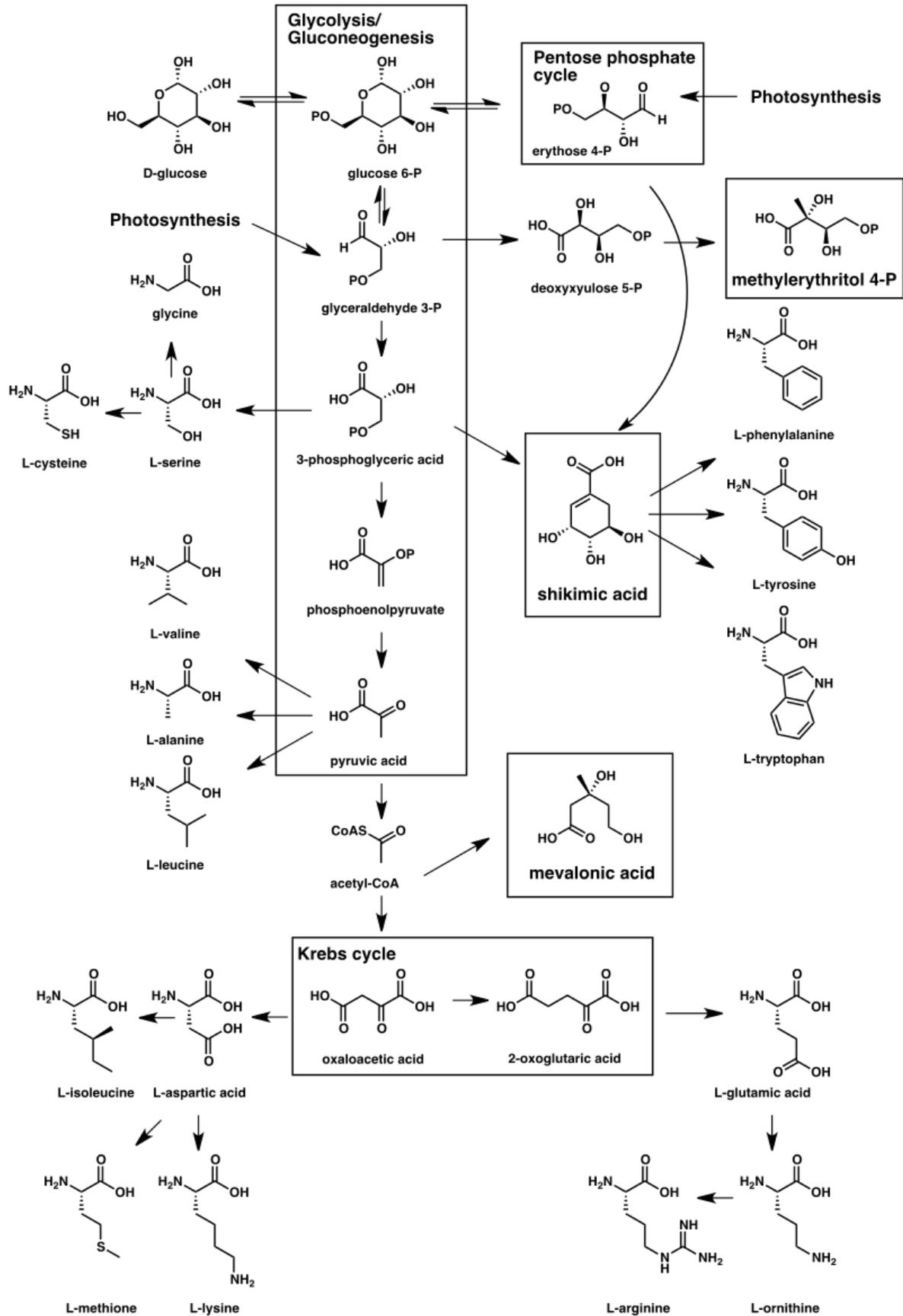


Figura 3. Vias de construção de metabólitos secundários.

Fonte: Dewick, (2009), adaptada.

Os compostos fenólicos são divididos em várias classes de acordo com o número de anéis aromáticos e os elementos estruturais que ligam esses anéis uns aos outros. Eles variam de moléculas simples (como ácidos fenólicos, com um único anel aromático), bifenois (como ácido elágico) e flavonoides, que contêm 2 a 3 anéis aromáticos (Balasundram *et al.*, 2006). Os principais grupos de compostos fenólicos são: ácidos fenólicos (C6-C1) como ácido gálico e p-hidroxibenzoico; ácidos hidroxicinâmicos (C6-C3) como ácidos cafeico, ferúlico, p-coumarico e sinápico, flavonoides (C6-C3-C6) e taninos (hidrolisáveis e condensados) (Balasundram *et al.*, 2006).

Os ácidos fenólicos possuem estrutura mais simples. As plantas modificam as estruturas primárias do ácido cinâmico, conjugando-a com três unidades de malonil-CoA originando um composto com 15 carbonos na forma C6-C3-C6 (Figura 4), precursor inicial de todas as classes de flavonoides como as flavononas, flavonas, isoflavonas, flavonóis, antocianinas e taninos condensados (Vogt, 2010). Nesta revisão serão abordadas algumas classes de flavonoides e taninos condensados.

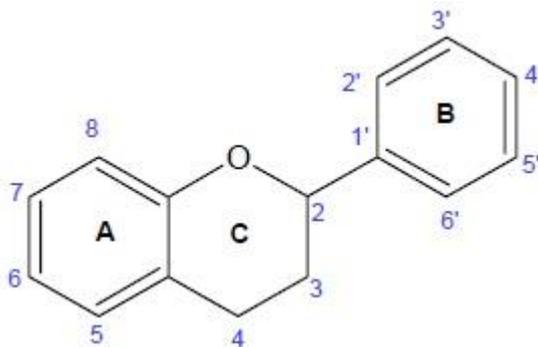


Figura 4. Estrutura da molécula precursora de flavonoides.
Fonte: Alves et al. (2010)

Mais de oito mil tipos de flavonoides têm sido descritos na natureza (Lago *et al.*, 2014). Considerando o metabolismo vegetal, cerca de 20% do carbono fixado pela fotossíntese é dedicado à biossíntese de flavonoides (Passamonti *et al.*, 2009). As

classes são diferenciadas geralmente pela posição do grupamento hidroxila nos carbonos dos anéis (B e C) da molécula de flavonoide principal bem como pelo grau de saturação, oxidação e hidroxilação do anel C. Assim, eles podem ser divididos em uma variedade de classes como flavonas (por exemplo: flavona, apigenina e luteolina), flavonóis (por exemplo: quercetina, kaempferol, miricetina e fisetina), flavononas (por exemplo: flavonona, hesperetina e naringenina), entre outros (Kumar e Pandey, 2013).

Nas plantas estas substâncias podem estar livres (forma aglicona), ligados a açúcares (forma glicosídeo, o que aumenta sua solubilidade em água) e apresentam poder antioxidante, antifúngico e antibacteriano, anti-inflamatório, antiviral e hormonal (Lago *et al.*, 2014).

Ligação dupla entre C2 e C3 e um átomo de oxigênio no carbono 4 do anel C (Figura 5), sendo os principais componentes desta classe as moléculas de luteolina e apigenina (Oliveira, L. L. *et al.*, 2014).

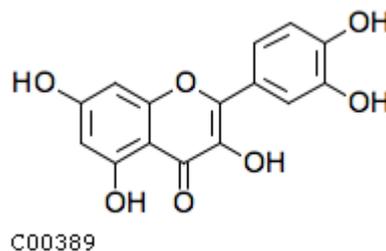


Figura 5. Estrutura química da luteolina.
Fonte: Keeg (2017)

As moléculas principais podem sofrer modificações em sua estrutura em relação ao carbono em que a unidade de açúcar é ligada, formando-se isômeros. Um exemplo é a orientina (luteolina-8-C- glicosídeo) (Figura 6) e a isoorientina (luteolina-6-C-glicosídeo) (Figura 7) que são moléculas derivadas da luteolina, enquanto a vitexina (apigenina-8-C- glicosídeo) (Figura 8) e isovitexina (apigenina-6-C-

glicosídeo) (Figura 9) são moléculas derivadas da apigenina. Suas estruturas variam apenas na posição de ligação do grupo de glicose em cada par (Ku *et al.*, 2014).

A orientina e isoorientina são isômeros com fórmulas empíricas $C_{21}H_{20}O_{11}$ e vitexina e isovitexina são estruturas isoméricas com fórmulas $C_{21}H_{20}O_{10}$. Esses quatro flavonoides são os principais representantes da classe flavona presente em *Passifloras* (Gomes *et al.*, 2016).

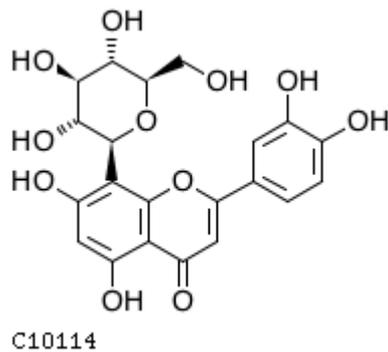


Figura 6. Estrutura da orientina (luteolina-8-C-glicosídeo)
Fonte: Keeg (2017)

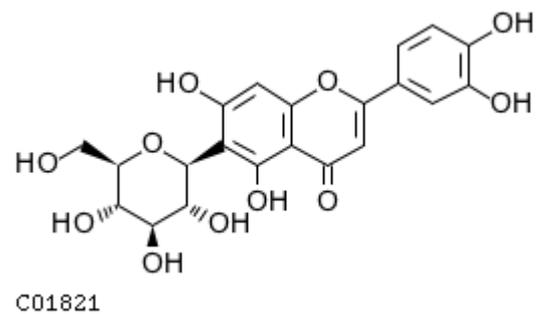


Figura 7. Estrutura da isoorientina (luteolina-6-C-glicosídeo)
Fonte: Keeg (2017)

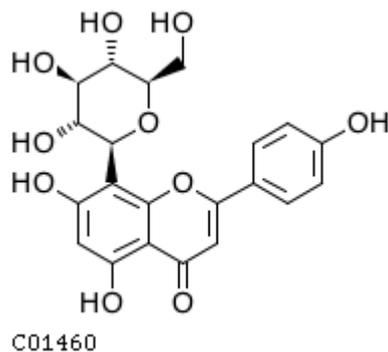


Figura 8. Estrutura da vitexina (apigenina-8-C-glicosídeo)
Fonte: Keeg (2017)

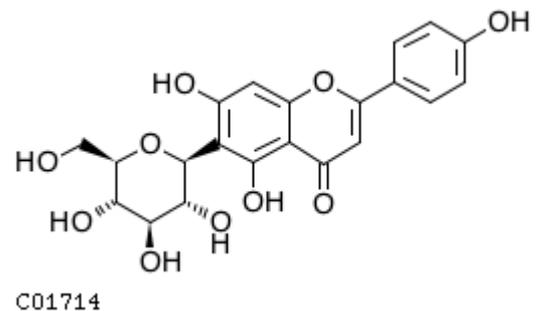


Figura 9. Estrutura da isovitexina (apigenina-6-C-glicosídeo).
Fonte: Keeg (2017)

Na planta, isoorientina, isovitexina e vitexina estão envolvidas na proteção contra agentes fúngicos *Fusarium oxysporum*, *Fusarium culmorum* (Mierziak *et al.*, 2014), mas também apresentam atividade biológica em ensaios *in vitro*, como

cardioproteção (Lu *et al.*, 2011) atividade antimutagênica, efeitos cito protetores contra o estresse oxidativo (Ugusman *et al.*, 2012) e propriedades anti-inflamatórias (Ku *et al.*, 2014), além de atividades sedativas e ansiolíticas (Santos *et al.*, 2006) em ratos. A vitexina inibe a proliferação e induz apoptose em células tumorais de câncer de mama, próstata e ovário (Zhou *et al.*, 2009), coriocarcinoma (ou neoplasia trofoblástica gestacional) (Tan *et al.*, 2012) e células cancerígenas orais (Yang *et al.*, 2013) em ensaios *in vitro*. Apresenta ainda efeito neuroprotetor, tanto *in vitro* (Machado *et al.*, 2016) como *in vivo* (Courtes *et al.*, 2015).

Os flavonóis ou flavan-3-ol são caracterizados pela presença de anel heterocíclico saturado e hidroxila em C3. A catequina, a epicatequina, a epigallocatequina e a teaflavina estão entre muitas estruturas e isômeros desta classe. Já as flavononas são caracterizadas pela presença de anel heterocíclico saturado e um grupo cetona em C4. As flavononas estão presentes em altas concentrações em frutos cítricos, mas também são encontradas em tomates e certas plantas aromáticas, como a hortelã. As principais agliconas são a naringenina, presente na toranja, a hesperetina, encontrada nas laranjas, e o eriodictiol, presente nos limões (Ignat *et al.*, 2011).

A hesperetina (3', 5,7-tri-hidroxi-4-metoxiflavona) (Figura 10) é um metabolito da hesperidina (hesperetina-7-O-rutinósido), que pertence ao subgrupo de flavonona e é encontrada principalmente em frutas cítricas. Esta flavonona apresenta atividade anti-inflamatória (Chang *et al.*, 2016), hipolipidêmica (Ohtsuki *et al.*, 2003; Lim *et al.*, 2015), anticancerígena (Sivagami *et al.*, 2012; Yang *et al.*, 2012) em ensaios *in vitro* e antidepressivas (Souza *et al.*, 2013; Donato *et al.*, 2014), ansiolíticas (Visnagri *et al.*, 2014), neuroprotetivas (Choi e Ahn, 2008) e osteogênicas (Xue *et al.*, 2017) *in vivo*.

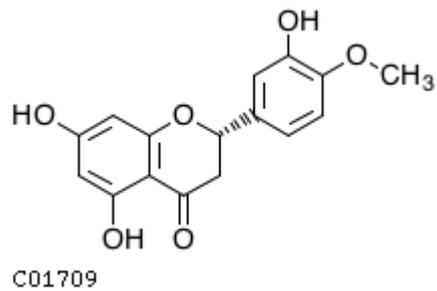


Figura 10. Estrutura da Hesperetina.
Fonte: Keeg (2017)

Diversos estudos relacionam o consumo de flavonoides a redução do risco de câncer e outras doenças crônicas (Sivagami *et al.*, 2012) No entanto, a maior parte dos estudos analisam classes de flavonoides e não compostos específicos, o que dificulta a apresentação de estudos realizados com humanos. Grosso *et al.* (2017) apresentaram uma meta-análise realizado com 143 estudos de caso controle com o intuito de analisar a evidência sobre a associação entre ingestão de flavonoides e risco de câncer em estudos observacionais. As meta-análises mostraram que o consumo de flavonoides apresentava associação à redução do risco de câncer do trato aero digestivo superior, colorretal, mama e pulmão, enquanto o consumo de isoflavonas, especificamente, apresentou associação com a redução do risco de câncer de ovário, mama, colorretal, endométrio e pulmão (Grosso *et al.*, 2017).

Os taninos são compostos de peso molecular relativamente elevado que constituem o terceiro grupo importante de fenólicos, e podem ser subdivididos em taninos hidrolisáveis e taninos condensados (Porter, 1989). Os taninos hidrolisáveis são constituídos por diversas moléculas de ácidos fenólicos, como o gálico (galotaninos) e o elágico (elagitaninos), que estão unidos a um resíduo de glicose central. A frutose e a sacarose também podem ser encontradas como unidade central. São chamados de hidrolisáveis, uma vez que suas ligações ésteres são passíveis de sofrerem hidrólise por ácidos ou enzimas (Elhadi, 2017).

Os taninos condensados ou proantocianidinas são flavonoides poliméricos em ligações carbono-carbono não suscetível à clivagem hidrolítica (Bartzoka *et al.*, 2017). Os taninos condensados mais amplamente estudados partem de estruturas condensadas de flavonóis, como epicatequina e catequina e flavan-3,4-diol (ou leucoantocianidina), a partir de uma ramificação da via da antocianina (Figura 11). Os passos seguintes são a formação de polímeros de proantocianidinas (Figura 12) pela adição de leucocianidinas à unidades terminais de catequina ou epicatequina (Petruzza *et al.*, 2013). As vias biosintéticas que conduzem à condensação e à polimerização ainda não são bem esclarecidas, mas sabe-se que os taninos possuem muitos anéis, insaturações e grupamentos hidroxila (Oliveira, L. L. *et al.*, 2014), o que confere a essas moléculas uma grande capacidade antioxidante.

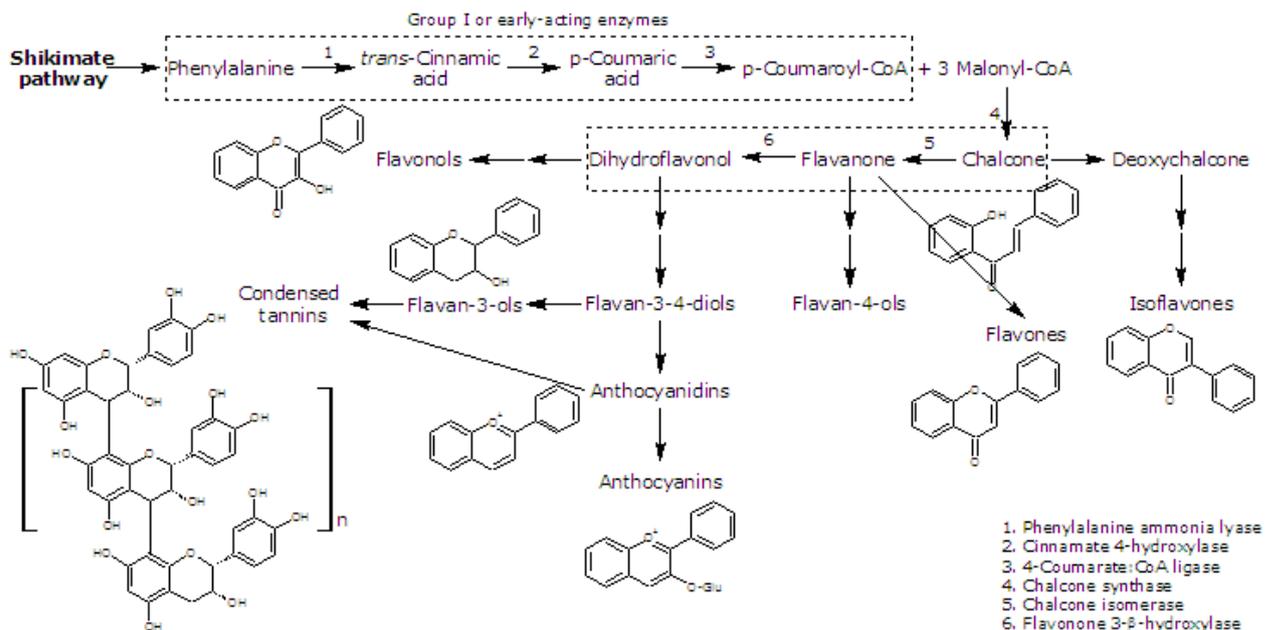


Figura 11. Formação de proantocianidinas.

Fonte: Dixon *et al.* (2013), adaptada.

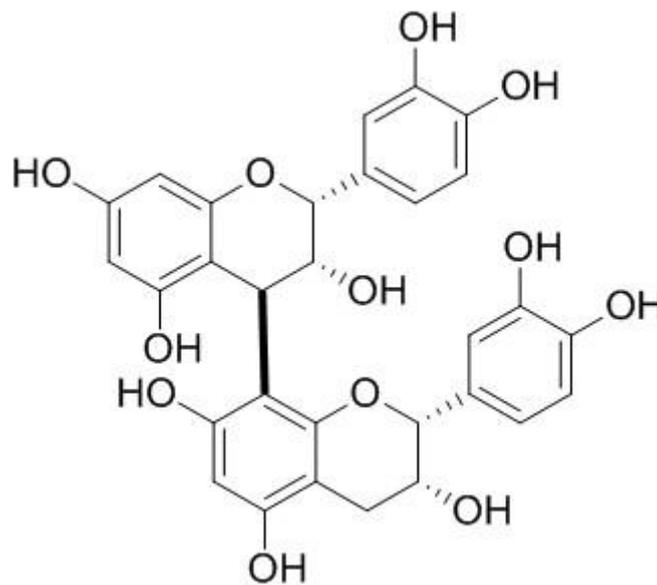


Figura 12. Proantocianidina B2 (Epicatechin 4 β * epicatechin).
Fonte: Keeg (2017)

Muthenna *et al.* (2014) avaliaram o efeito do consumo de proantocianidina B2 por ratos diabéticos e observaram melhora na função renal, tendo como evidência a redução da albumina urinária e creatinina. O consumo de proantocianidinas vem sendo associado à redução do risco de desenvolvimento de câncer de cólon e reto (Theodoratou *et al.*, 2007), estômago e pâncreas (Rossi, 2011) em estudos de caso-controle.

Os carotenoides são moléculas comuns a todos os tecidos fotossintéticos. Eles são divididos em hidrocarboneto caroteno, como o licopeno e o β -caroteno, ou xantofilas, como a luteína, a depender da sua forma linear ou cíclica (Bramley, 2002). Os carotenoides são sintetizados nos plastídios de células vegetais. Os plastídios, também chamados de plastos, são organelas celulares que apresentam funções de fotossíntese, síntese de aminoácidos e ácidos graxos, além de armazenamento. Nos cloroplastos, os carotenoides participam da captura da luz pelas membranas fotossintéticas e têm função de fotoproteção, protegendo o aparelho fotossintético dos danos causados pelos radicais livres em situações de energia excessiva. Além disso, eles são componentes importantes de alguns pigmentos proteicos e são precursores

do ácido abscísico, um hormônio vegetal que atua na resposta ao estresse (Taiz e Zeiger, 2013).

As plantas são as maiores fontes de carotenoides da dieta de humanos e animais e sua biossíntese tem como origem o piruvato, da via glicolítica com via comum até o ácido mevalônico (Bramley, 2002). A partir do gliceraldeído-3-fosfato pirurato, após uma série de reações, há formação do geranyl-geranyl difosfato, com 20 carbonos. A dimerização de duas moléculas de geranyl-geranyl difosfato resulta na síntese do fitoeno, desprovido de cor, a partir da enzima fitoeno sintase. Em seguida segue-se uma série de insaturações a partir do fitoeno para formar fitoflueno, ζ -caroteno, neurosporeno e, finalmente, o licopeno. O licopeno pode também ser ciclizado numa das extremidades, formando o α -caroteno. Com mais uma ciclização, há formação do β -caroteno (Almeida, 2017). Os carotenos são a classe que tem maior expressão na cor das plantas, devido a serem cristais de tonalidade vermelha, apolares e solúveis em solventes orgânicos apolares. Luteína e β -caroteno são dois componentes principais da classe dos carotenoides (Bian *et al.*, 2015)

Os compostos com função pró-vitáminica A têm um papel fundamental na manutenção, crescimento e diferenciação epitelial. Também apresentam ação antioxidante (Cazzonelli e Pogson, 2010). Existem muitos fatores que interferem na expressão de carotenoides durante a fase reprodutiva, o desenvolvimento, a maturação ou situações de estresse. No entanto, os fatores ambientais que interferem na sua biossíntese ainda não estão amplamente entendidos (Othman *et al.*, 2014).

A fitoeno sintase é considerada a enzima mais importante da via de biossíntese de carotenoides, respondendo ao ácido abscísico (ABA) em situações de excessos de luminosidade, temperaturas, salinidade, seca, e fotoperíodo, desenvolvendo vias de *feedback* e regulação pós-transcrição (Cazzonelli e Pogson,

2010). Esta regulação é específica para cada tecido podendo ocorrer, por exemplo o aumento da expressão da fitoeno sintase em situação de estresse hídrico e aumento de fluxo de carotenoides e expressão de ABA nas raízes, uma parte da planta que não realiza fotossíntese (Li *et al.*, 2008).

A carotenogênese em frutas e flores é controlada por mecanismos regulatórios que são distintos daqueles que operaram em tecidos verdes. Nas primeiras fases do desenvolvimento do fruto, enquanto ele ainda está verde, a composição dos carotenoides do fruto é semelhante à das folhas. A partir do início do amadurecimento, a cor muda de verde para laranja devido ao acúmulo de licopeno, que leva ao aumento da síntese de enzimas que modulam carotenoides. Porém este não parece ser o único mecanismo regulatório (Hirschberg, 2001).

O ácido ascórbico é um antioxidante vital nas plantas e apresenta papel vital na fisiologia do estresse vegetal. O ácido ascórbico é sintetizado em quase todos os tecidos vegetais com funções generalizadas, tais como antioxidantes, promovendo crescimento e divisão de células e atuando como substrato ou cofator enzimático de várias reações (Locato *et al.*, 2013).

A deficiência de ácido ascórbico na dieta causa escorbuto, uma doença associada à diminuição da síntese de colágeno provocando edema generalizado, hemorragias, inchaços nas gengivas, queda dos dentes e, se não tratada, a morte (Magiorkinis *et al.*, 2011). Atualmente, a deficiência de vitamina C é muito rara e a mesma vem sendo consumida pela sua atuação como antioxidante. Estudos epidemiológicos revelaram que o consumo de vitamina C em níveis acima da RDA (75 mg/dia para homens e 60mg/dia para mulheres (Iom, 2001)), no Brasil, reduz significativamente o risco de infecções respiratórias, doenças cardiovasculares e câncer (Schlueter e Johnston, 2011). Estudos *in vivo* vinculam o aumento na

concentração de ácido ascórbico nas mitocôndrias com o aumento de conteúdo alimentar da vitamina C. A vitamina C atua na redução das espécies reativas de oxigênio (ROS) através da oxidação de ácido desidroascórbico (Magiorkinis *et al.*, 2011). A perda de um elétron de ácido ascórbico resulta na formação de monodehidroascorbato (MDA). O MDA é instável e, a menos que seja re-reduzido para ácido ascórbico ou reduzido novamente gerar o desidroascorbato (DHA). Tanto a ADM como o DHA podem ser reduzidos de volta ao ácido ascórbico através da atividade das redutases (Conklin, 2001). Na indústria alimentícia, o ácido ascórbico é usado para aumentar a vida útil do produto e ou para propostas específicas de produção tecnológica, como propriedades reológicas em grãos (Tiwari *et al.*, 2009; Paradiso *et al.*, 2012).

A quantidade e intensidade de luz são fatores chave na regulação da biossíntese e o acúmulo de ácido ascórbico em plantas e o nível de ácido ascórbico aumenta quando a planta cresce na presença de alta luminosidade (Bian *et al.*, 2015). A síntese se dá, resumidamente, a partir da glicose-6-P (Figura 13) transformada em manose-6-P, GDP-L-galactose, L-galactose e L-galactono-1,4-lactona, chegando ao ácido L-ascórbico.

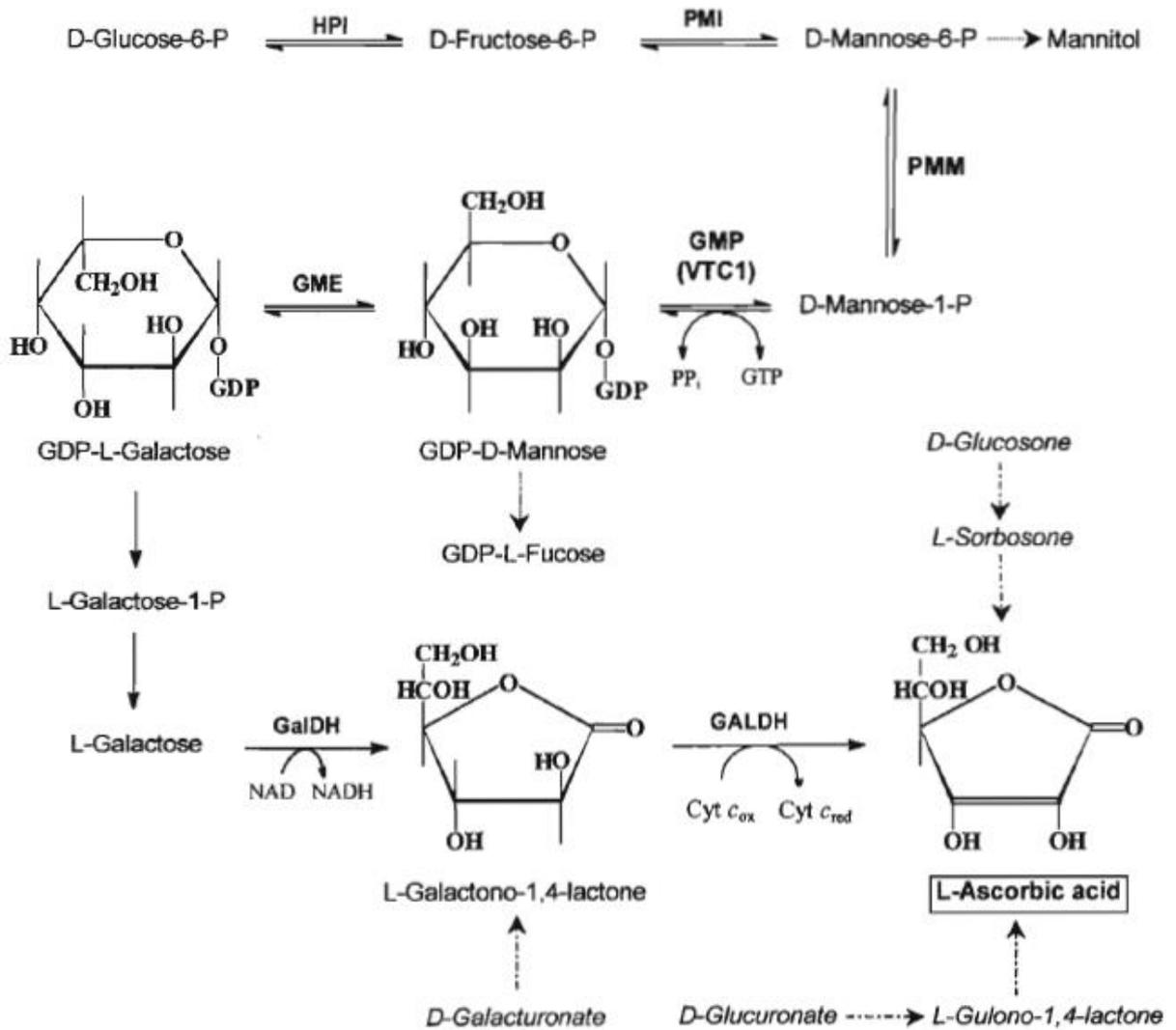


Figura 13. Síntese de ácido ascórbico.

Fonte: Smirnoff (2001).

Outro possível precursor do ascorbato é o D-galactoturonato, originário da degradação da pectina (Locato *et al.*, 2013). O fluxo de substratos para a produção de ácido ascórbico aumenta à medida que o fruto amadurece e aumenta a sua respiração celular. O etileno, hormônio gasoso associado ao amadurecimento dos frutos, também interfere na biossíntese de ácido ascórbico. Nos frutos de tomate, o tratamento com etileno estimula a expressão de L-galactono-1,4-lactona (Locato *et al.*, 2013). Já em kiwi, que também é uma fruta climatérica, os níveis mais altos de

ácido ascórbico são encontrados nos estágios iniciais do fruto, que parece ter a biossíntese de ácido ascórbico independente de etileno (Li *et al.*, 2010). Esses achados comprovam que os eventos de biossíntese em vegetais apresentam peculiaridades, a depender da espécie (Locato *et al.*, 2013).

1.4.4. Influência de fatores edafoclimáticos no metabolismo secundário

Estudos recentes têm demonstrado que as frutas são ricas em muitos nutrientes e compostos antioxidantes, que são originados do metabolismo secundário das plantas em condições de estresse como infecções, extremos de temperaturas e radiações UV. Estes fitoquímicos se acumulam nas organelas das plantas de forma específica e sua distribuição e acumulação são influenciadas por uma variedade de fatores ambientais prévios à colheita, tais como temperatura, luz, disponibilidade de água e nutrientes, condições de cultivo, genótipos ou cultivares (Tilahun *et al.*, 2017).

Quanto às condições de cultivo, os sistemas de condução em latada ou espaldeira podem interferir na composição em termos de compostos bioativos por influenciarem na luminosidade. Segundo Bian *et al.* (2015), a luminosidade é um dos fatores ambientais mais importantes no que se refere ao teor de fitoquímicos no tecido vegetal. Esta pode variar em função da localização, época do ano, fatores climáticos e sombreamento do fruto.

Estudos que avaliam a influência do sistema de condução na qualidade de maracujás são escassos. O trabalho de Araújo Neto *et al.* (2014), por exemplo, aborda a influência de cultivos de espaldeiras com 3 ou 4 metros na produtividade de cultivo orgânico consorciado com outras espécies. Santos *et al.* (2016) avaliaram o desenvolvimento vegetativo e fisiológico de plantas de maracujá-do-mato (*Passiflora cincinnata* Mast) propagadas por meio de sementes ou mudas, em espaldeiras de diferentes distâncias entre as linhas e concluíram que não há diferenças entre os

sistemas de propagação ou no espaçamento entre as plantas em relação a conteúdo de clorofila nas folhas. Apesar dos estudos considerarem os sistemas de condução, a comparação entre os sistemas verticais e horizontais não é abordada.

Costa et al. (2014) compararam a produtividade de frutos das plantas de *Passiflora setacea* conduzidas em sistemas de cultivo latada e espaldeira nos períodos de agosto de 2013 a abril de 2014. Os autores observaram que a produtividade por área em latada foi superior ao sistema de espaldeira na ordem de 23% ao longo do período observado. O sistema latada também foi mais produtivo no estudo de Bernal (1990) *apud* Miranda (2009).

A maioria dos estudos avaliando diferentes sistemas de condução foram realizados com videiras. Alguns estudos, como o de Martin *et al.* (2016), não avaliam o sistema de condução propriamente dito, e sim a posição do fruto na planta ou no cacho. Os autores avaliaram a composição de uvas no sistema espaldeira vertical, comparando uvas expostas e não expostas ao sol e concluíram que as frutas expostas apresentaram maior teor de açúcares e menor acidez que as sombreadas. O teor de fenólicos totais também foi maior nos cachos expostos. O que, segundo os autores, está associada à maturação mais rápida nos frutos expostos à luz solar.

Já em uvas Pinot noir, os sistemas de condução verticais ou horizontais afetaram o rendimento, mas apresentaram pouco ou nenhum impacto na composição da uva e do vinho em relação a açúcares das uvas e fenólicos do vinho. A análise sensorial não mostrou diferenças relevantes entre os sistemas de condução (Peterlunger *et al.*, 2002).

Segundo Reynolds e Heuvel (2009), sistemas horizontais como latada de cortina dupla são mais eficientes em relação à interceptação da radiação quando comparados a sistemas verticais, como a espaldeira. No sistema de produção em

forma de latada, videiras apresentaram maior área de superfície foliar e maior volume de copa, enquanto vinhas em espaldeira vertical tinham a menor superfície e volume de copa. Adicionalmente, Gladstone e Dokoozlian (2003), avaliando o efeito do sistema de condução sobre a incidência de luz em na copa de uvas *Chardonnay* e *Cabernet*, descobriram que os sistemas não-verticais (semelhantes à latada) eram caracterizados por uma camada de densidade de área foliar relativamente alta no exterior da videira, mas apresentaram menor densidade de área foliar no interior enquanto, em contraste, os sistemas verticais (como a espaldeira) aumentaram em densidade da área foliar do topo da copa em direção à zona de frutificação. Isso demonstra um mecanismo de adaptação compensatória da planta para garantir a produtividade e qualidade dos frutos uma vez que todas as variáveis de produção e composição de frutos dependem, em última instância, da atividade fotossintética das folhas.

Jakopic *et al.* (2016) avaliaram o efeito da posição de maçãs “Golden Delicious” no cacho e observaram diferenças no conteúdo de fenólicos entre maçãs do topo e cacho e as laterais no início do seu desenvolvimento. Apesar dos frutos apresentarem diferenças nos estágios iniciais, não houve diferenças significativas nos frutos totalmente maduros e no perfil de açúcares.

Embora existam diferenças na interceptação de luz e no microclima de folhas e frutas submetidas a diferentes sistemas de condução (Gladstone e Dokoozlian, 2003), Reynolds e Heuvel (2009) afirmam que ainda não foi demonstrado uma relação conclusiva entre o sistema de condução de videiras e a composição de uvas ou qualidade do vinho.

Condições climáticas como temperatura de crescimento e índice pluviométrico influenciam o teor de ácidos fenólicos, flavonoides, antocianinas e atividade

antioxidante de frutos e vegetais (Ali *et al.*, 2009). Lefsrud *et al.* (2006) avaliaram o efeito da exposição solar sobre o acúmulo de luteína e β -caroteno em couve. Os maiores níveis dos carotenoides foram obtidos no tratamento de fotoperíodo de 24 h, enquanto os valores menores foram encontrados no tratamento com 6 h de exposição à luz. Cortell e Kennedy (2006) relataram concentrações mais baixas de flavonóis, antocianinas e proantocianidinas em uvas cultivadas em ambiente sombreado. Da mesma forma, Kläring e Krumbein (2013) demonstraram que os níveis de β -caroteno em frutos de tomate diminuíram com redução da intensidade da luz. Já Kläring e Krumbein (2013), sugeriram que não houve diferença significativa no conteúdo de licopeno e β -caroteno entre os tomates em ambientes sombreados e não sombreados. Vale ressaltar que a única variável deste experimento foi o sombreamento, ou seja, temperatura, umidade, entre outros, eram mantidas constantes.

Ali *et al.* (2009) avaliaram o efeito do fotoperíodo (6, 12, 18 ou 24 horas) sobre o conteúdo de β -cianina, teor de fenólicos e atividade antioxidante de folhas de vegetais de folhas verdes (amaranto vermelho, beterraba, acelga, espinafre vermelho e amaranto verde) e concluíram que, considerando o conteúdo global de fitoquímicos, o melhor fotoperíodo para estes vegetais foi de 12 h, havendo redução em fotoperíodo de 18 ou 24 horas, tanto nas folhas como no bulbo dos vegetais.

Pineli *et al.* (2011) avaliaram o efeito do fotoperíodo, chuvas e média mensal de temperatura no teor de fenólicos, vitamina C e atividade antioxidante de morangos cultivados no cerrado (*Fragaria x ananassa* Duch.). O teor de fenólicos foi 33% menor no mês antecedido por chuvas, enquanto a quantidade de vitamina C dos morangos foi superior nos meses de maior incidência solar.

Já Mditshwa *et al.* (2013) analisaram o teor de fitoquímicos de romãs (*Punica granatum* L.) cultivadas na África do Sul. Neste estudo as temperaturas máximas e

mínimas não variaram significativamente e os autores observaram que a fruta cultivada no local de alta intensidade de luz (18.7 mJ/m²) e com maior intensidade média de chuvas (585 mm) apresentava conteúdo de fenólicos e vitamina C significativamente maior que em locais de menor intensidade de luz (17.5 e 18.1 mJ/m²) e menor intensidade de chuvas (373 e 445 mm). Já em mirtilos (*Vaccinium corymbosum* L.), precipitação foi negativamente relacionada ao teor de ácido ascórbico (Remberg *et al.*, 2014). Tilahun *et al.* (2017) sugerem em sua revisão que o conteúdo de vitamina C em tomates (*Lycopersicon esculentum* Mill.) é favorecido pela temperatura, intensidade de luz e estresse hídrico.

Mphahlele *et al.* (2014) avaliaram o efeito de variáveis climáticas em três diferentes locais de crescimento nos conteúdos de fitoquímicos e atividade antioxidante de romãs (*Punica granatum* L.). O teor de flavonoides totais foi menor na altitude de 662m, que apresentou maior temperatura máxima (30° C) e maior intensidade de luz (23 mJ/m²) e não variou entre as regiões com 222 m e 898 m. O teor de fenólicos totais e taninos totais variou significativamente entre as três regiões, sendo maior no local de menor altitude (222 m), menor temperatura mínima (10° C) e intensidade de luz intermediária (19 mJ/m²) e não variou significativamente quanto a presença ou não de chuvas (nas regiões com 898 e 662 m de altitude, respectivamente; com temperaturas máximas e mínimas próximas). A atividade antioxidante dos frutos e o conteúdo de vitamina C também apresentaram este comportamento.

Meng *et al.* (2012) investigaram o efeito do cultivo em abrigo de chuva sobre a incidência de doenças e composição de compostos fenólicos de cascas de uvas *Vitis vinífera* cv. Cabernet Gernischt, comparando-as com o cultivo em campo aberto em duas safras. Os resultados mostraram que o cultivo protegido de chuva reduziu a

incidência de doenças de modo significativo e atrasou a maturação dos frutos. No que se refere ao conteúdo de fenólicos, as uvas cultivadas em abrigo de chuva apresentaram menores teores de fenólicos que aquelas sob cultivo em campo aberto.

Tomates cereja (*Solanum lycopersicum* L. cv. *Naomi*) cultivados no Mediterrâneo apresentaram um aumento em compostos antioxidantes tais como fenóis, flavonoides e ácido ascórbico em função da temperatura e menor teor de licopeno em temperaturas mais elevadas (Rosales *et al.*, 2011). Preedy (2008) também afirma que temperaturas acima de 30 °C inibem a formação de licopeno no tomate e favorecem a formação de outros carotenoides, que dão cor amarela a laranja ao fruto.

Assim, condições como o tipo de cultivo, o sistema de condução e condições de luminosidade, temperatura e umidade podem afetar a composição dos frutos em termos de compostos bioativos, que por sua vez, influenciam a atividade antioxidante de frutos (Mphahlele *et al.*, 2014). Por ser uma relação dinâmica, multifatorial e simultânea, o estabelecimento de um padrão de comportamento entre as variáveis climatológicas e os conteúdos de fitoquímicos é complexo. No entanto, nota-se que há uma tendência de aumento na concentração de fenólicos, flavonoides, taninos, carotenoides e ácido ascórbico nas condições de maior estresse fisiológico tais como excessos de temperaturas, restrição hídrica e baixa luminosidade, sendo relativa a questão de quão intensos devem ser estes fatores adversos para causarem uma resposta fisiológica ao estresse.

Compostos secundários, principalmente compostos fenólicos, carotenoides e taninos, possuem uma influência importante sobre as características sensoriais de frutos e seus derivados no que se refere a cor, aroma, sabor, amargor e adstringência (Oliveira, L. *et al.*, 2014). A avaliação do efeito dos sistemas de condução e das

variáveis climatológicas sobre as características sensoriais dos frutos de *Passifloras* e a associação com as variáveis físicas e químicas são importantes para uma definição mais detalhada da qualidade dos frutos quanto aos seus atributos sensoriais.

1.5. Análise Sensorial de Alimentos

A análise sensorial é uma importante ferramenta na indústria de alimentos que provê informações relevantes no desenvolvimento de novos produtos, reformulação de produtos existentes e otimização de processos produtivos (Meilgaard *et al.*, 2006). O avaliador pode auxiliar a medir os atributos sensoriais; identificar características ou propriedades de interesse na qualidade sensorial como sabor, cor, odor, textura, entre outros (testes descritivos); detectar se há diferença entre dois ou mais produtos (testes discriminativos); além de determinar o grau em que se aceita ou não um produto, relacionando-o à sua intenção de compra (testes afetivos) (Minim, 2010).

1.5.1. Testes discriminativos

Os testes discriminativos são utilizados para verificar se há diferenças nas características de amostras ou produtos em função de variações na composição, modificações em embalagens, tempo de prateleira, entre outros. Essas diferenças podem ser de natureza qualitativa ou quantitativa (Stone e Sidel, 2004).

Entre os testes discriminativos, o teste triangular, o teste duo-trio e o teste de comparação pareada verificam se há diferença sensorial significativa entre duas amostras. Este último é utilizado para analisar um atributo específico, por isso é considerado um teste direcional, uma vez que chama a atenção do avaliador para determinado atributo sensorial (doçura, acidez, etc.) (Drake, 2007).

Quando se deseja comparar diversas amostras ao mesmo tempo em relação a determinado atributo, pode-se utilizar o teste de ordenação: as amostras são

apresentadas ao avaliador e solicita-se que ele ordene as amostras em ordem crescente ou decrescente do atributo avaliado (Meilgaard *et al.*, 2006). Por exemplo: os avaliadores são orientados a provarem as amostras aleatorizadas e a ordenarem-nas em ordem crescente de doçura.

Alternativamente, o teste de comparação múltipla ou testes de diferença do controle é aplicado quando se deseja avaliar a diferença entre mais de duas amostras para um determinado atributo (direcional) e ao mesmo tempo quantificar a magnitude da diferença em relação a uma amostra–controle. Quando se deseja comparar várias amostras simultaneamente, sem relacioná-las a um atributo específico (teste não-direcional), utiliza-se o teste de diferença do controle. O teste de diferença do controle verifica se existe diferenças significativa entre vários tratamentos (amostras) em relação a uma amostra referência (controle). A análise de dados é realizada por análise de variância (ANOVA) e o teste de médias Dunnett, comparando-se a amostra controle com as outras amostras (Dutcosky, 2011).

1.5.2. Testes afetivos

Para avaliar aceitação ou preferência de consumidores, utilizam-se os testes afetivos. Por meio dos testes afetivos é possível saber qual o produto preferido ou mais aceito por determinado público-alvo, em função de suas características sensoriais (Meilgaard *et al.*, 2006).

Os testes afetivos podem ser de preferência e aceitação (Stone e Sidel, 2004). Os conceitos de preferência e aceitação algumas vezes se confundem. O termo “preferência” é construído como uma dimensão comportamental. Representa a escolha de uma amostra em detrimento de outra. Pode representar também uma afetividade psicológica contínua. Já o termo “aceitação” ou “aceitabilidade” é reservado para escalas afetivas de alimentos que estão sendo testados ou

consumidos (Cardello *et al.*, 2000).

Entre os testes afetivos, a ferramenta mais utilizada para quantificar a aceitação de consumidores por produtos alimentícios é a escala hedônica de nove pontos. Esse é o teste mais amplamente utilizado para estudos com avaliadores não treinados (Minim, 2010).

Os dados obtidos em um teste de aceitação em que se utiliza a escala hedônica são submetidos à Análise de Variância Univariada (ANOVA). Se a ANOVA mostra que há diferença significativa ($p < 0.05$), é realizado um teste *a posteriori* como o teste de médias de Tukey, que verifica se há diferença significativa entre as médias. Geralmente utiliza-se um nível de confiança de 95% (Stone e Sidel, 2004).

No entanto, os métodos afetivos tradicionais avaliam apenas se os consumidores gostam ou desgostam das amostras, desconsiderando informações sobre quais as características sensoriais percebidas nos produtos (Minim, 2010).

A partir das médias de aceitação, é possível obter mapas de preferência. O mapa de preferência interno utiliza procedimentos estatísticos multivariados, como Análise de Componentes Principais (ACP) e formação de grupamentos de consumidores, para obter a representação gráfica das diferenças de aceitação de diversos produtos. Esta metodologia multivariada considera a individualidade dos consumidores e não somente a média do grupo, permitindo relacionar a aceitação ou rejeição de determinado produto às suas características sensoriais (Drake, 2007).

Há ainda os testes descritivos, usados para identificar quais atributos sensoriais se relacionam à maior ou menor aceitação das amostras.

1.5.3. Testes Descritivos

A Análise Descritiva Quantitativa (ADQ) é um método que utiliza avaliadores

treinados para descrever quantitativamente os atributos sensoriais dos produtos. Trata-se de uma metodologia que utiliza de 8 a 20 avaliadores treinados, e em várias fases que incluem a pré-seleção de avaliadores, levantamento geral de descritores, treinamento dos experts quanto aos descritores e suas intensidades e avaliação de amostras e análise de resultados (Ares e Jaeger, 2013). Os dados gerados na ADQ podem ser usados posteriormente em estudos de segmentação de consumidores (análise de *clusters*) e mapas de preferência.

A ADQ é um método de alto custo, que demanda tempo de pesquisa uma vez que é importante que os avaliadores estejam treinados quanto ao vocabulário relacionado e à intensidade de cada descritor para cada produto. Além disso, os avaliadores podem descrever os produtos diferentemente de como os consumidores os percebem (Ares, Giménez, *et al.*, 2010).

Neste contexto, surge a necessidade de desenvolvimento de métodos mais rápidos para obter informações de consumidores (Ares, Barreiro, *et al.*, 2010). Uma alternativa é o uso do método *Check All That Apply* (CATA).

1.5.4. *Check All That Apply* (CATA)

O método *check all that apply* (CATA) vem sendo comumente utilizado para coletar dados analíticos de avaliação de produtos por avaliadores não treinados (consumidores). O CATA é originário do trabalho do matemático Clyde Coombs (1964), que aplicou a matemática à psicologia pela primeira vez em uma pesquisa de mercado (Giacalone, 2013). O método ganhou popularidade após ser utilizado em propostas de estudos de análise sensorial e de comportamento de consumidores.

Usado para o perfil descritivo, o método CATA consiste em apresentar amostras dos produtos a serem avaliados (alimento ou bebida) acompanhadas de

uma lista de descritores pré-definidos, ou seja, uma lista com palavras ou frases na qual devem ser marcados (“*check*”) os termos considerados apropriados para descrever o produto. Este tipo de teste tem sido usado para determinar quais atributos sensoriais são percebidos pelos consumidores em um produto (Varela e Ares, 2012).

O método CATA utiliza um questionário de múltipla escolha onde o avaliador não é limitado a selecionar apenas uma resposta, podendo marcar todas as opções que ele considera apropriadas (Dooley *et al.*, 2010), conforme apresentado na Figura 14.

Prove a amostra e então marque todos os termos que você achou apropriado para descrevê-la.	
Doce	<input type="checkbox"/>
Amargo	<input type="checkbox"/>
Lúpulo	<input type="checkbox"/>
Floral	<input type="checkbox"/>
Adstringente	<input type="checkbox"/>
Frutado	<input type="checkbox"/>

Figura 14. Exemplo de formulário do método *check all that apply*.
Fonte: Giacalone (2013), traduzido.

Em comparação a outros testes sensoriais, o CATA tem a vantagem de

requerer poucas instruções, de ser fácil e relativamente rápido de ser conduzido (Giacalone, 2013). O método CATA deve ser aplicado em quatro fases: 1- Listar os termos (palavras ou frases que descrevem os produtos); 2- Os avaliadores selecionam os termos que eles consideram apropriados para descrever os produtos, que são apresentados monadicamente de forma randomizada; 3- Tabulação de dados em matrizes e 4- Análise de dados.

Na análise dos resultados, os dados obtidos pelo método CATA são respostas dicotômicas (1/0) para cada termo presente na lista de descritores. É atribuído o valor “1” (um) quando o avaliador marca o termo (“*checked*”) ou o valor “0” (zero) quando o avaliador não marca o termo (“*non-checked*”) (Giacalone, 2013).

É construída uma matriz para cada avaliador, onde nas linhas se colocam as amostras e nas colunas os termos (Ares, G., Etchemendy, E., *et al.*, 2014). A partir das matrizes individuais, se aplica o teste Q de Cochran’s, uma estatística usada para investigar diferenças entre tratamentos para estudos cruzados com resultados binários (como, por exemplo: “sim” / “não” ou “marcado” / “desmarcado” como usado para CATA). O teste aplica-se a um atributo por vez. (Meyners *et al.*, 2013)

Com base nas matrizes individuais, se obtém a matriz de frequência global. Para obter uma representação bidimensional das amostras, pode-se aplicar a Análise de Correspondência (AC) à matriz de frequência global (Varela e Ares, 2012), e tal representação é uma generalização da análise de componentes principais medida pelas análises de frequência de dados. Trata-se de uma ferramenta analítica comum usada para os dados de CATA, usada principalmente para visualização gráfica das similaridades e diferenças entre as amostras assim como os atributos sensoriais que as caracterizam (Varela e Ares, 2012).

A Análise Fatorial Múltipla também pode ser aplicada com vantagens em

termos de interpretação e avaliação de resultados de mapas sensoriais gerados por CATA com mapas precedidos de ADQ ou de dados de CATA acompanhados de dados hedônicos (Ares, Barreiro, *et al.*, 2010; Dooley *et al.*, 2010).

Diversos estudos têm mostrado como utilizar o método CATA como um instrumento validado que pode ser utilizado juntamente com mapas de preferência externo, que correlacionam dados descritivos a dados hedônicos e dados de composição de alimentos, por exemplo (Ares, Barreiro, *et al.*, 2010; Ares, Giménez, *et al.*, 2010; Dooley *et al.*, 2010; Vidal *et al.*, 2017).

Recentemente, Ares e Jaeger (2017) utilizaram questionários utilizando *emojis* (caracteres gráficos utilizados em comunicações mediadas por computador para transmitir ideias, atitudes, humor e emoções) para transmitir emoções em um teste sensorial aplicado em associação ao CATA. Os autores observaram que a utilização dos *emojis* foi eficiente para a discriminação de amostras, mostrando que estudos de análise sensorial podem acompanhar as tendências contemporâneas.

No presente estudo, acredita-se que as condições climáticas (estação chuvosa e seca) e os sistemas de condução (latada e espaldeira) interferiram na composição de polpa de *P. setacea* quanto ao conteúdo de fitoquímicos e que esta variação na composição possa interferir nas características sensoriais das polpas no que se refere à doçura, acidez e intensidade de cor, entre outros atributos sensoriais.

CAPÍTULO 2 - OBJETIVOS, MATERIAIS E MÉTODOS DE PESQUISA

2.1. OBJETIVOS

2.1.1. Objetivo geral

Avaliar o efeito dos sistemas de condução e das condições climáticas quanto ao conteúdo de compostos bioativos, atividade antioxidante e qualidade sensorial de polpas de *Passiflora setacea*.

2.1.2. Objetivos específicos

- Avaliar o efeito dos sistemas de condução em latada ou espaladeira e das condições climáticas nas estações seca ou chuvosa no conteúdo de compostos bioativos (fenólicos totais, flavonoides totais, taninos condensados, carotenoides e vitamina C) e atividade antioxidante em polpas de *P. setacea*.
- Identificar e quantificar os flavonoides mais frequente (orientina, isoorientina, vitexina, isovitexina e hesperetina) em polpas de *P. setacea* cultivadas em diferentes sistemas de condução e condições climáticas, por meio de cromatografia líquida de alta eficiência (HPLC-DAD)
- Avaliar o efeito dos sistemas de condução, das condições climáticas na qualidade físico-química, composição em compostos bioativos, aceitação e perfil sensorial de refresco produzido com polpas de *P. setacea*.

2.2. MATERIAIS E MÉTODOS

2.2.1. Materiais

Os frutos analisados são produto do melhoramento genético da espécie *Passiflora setacea* realizado pela Embrapa Cerrados, registrada (RNC Nº21714) e protegida (SNPC Certificado Nº 20120197) no Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (Mapa), resultando no maracujá *BRS Pérola do Cerrado* (BRS-PC). Os frutos de *Passiflora setacea* BRS-PC foram colhidos do pomar da Fazenda Experimental da Embrapa Cerrados, 15°36'13.02"S; 47°43'17.34"O, e altitude aproximada de 1050 m, BR 020 Km 18, Planaltina, Brasília, DF. Os frutos foram plantados em sistemas de condução espaldeira ou latada, conforme apresentados nas Figuras 1 e 2. A adubação de plantio, em ambos os sistemas de condução (latada e espaldeira), foi: calcário dolomítico para elevar V para 50%, P (Super Simples) = 250 g/cova; N (Sulfato de amônia) = 100 g/cova; K (Cloreto de potássio) = 100 g/cova; FTE BR12 =100 g/cova; Matéria orgânica (tipo: cama de frango) = 10 litros por cova. Mudanças com dois meses e meio de idade foram ao campo em Dezembro/2012, plantadas em 5 linhas contendo oito plantas por linha, no espaçamento 3 m entre linhas e 5 m entre plantas, totalizando área de 40 m x 15 m (0,06 ha) e densidade de plantas de 666 plantas/ha, para cada sistema de condução, conforme apresentado no croqui do experimento (Anexo 01).



Figura 1. Sistema de condução espaldeira



Figura 2. Sistema de condução Latada

2.2.1.1. Desenho experimental

O planejamento experimental foi dividido em duas partes: análises de fitoquímicos em polpa de *Passiflora setacea* e análise sensorial com refresco preparados a partir das polpas de *Passiflora setacea*.

Para análise de fitoquímicos, o experimento foi realizado com polpas de *Passiflora setacea* segundo o delineamento em blocos casualizados, sendo que os tratamentos foram organizados de acordo com um esquema fatorial. Foram estudados 2 fatores: sistema de condução (latada ou espaldeira) e estação do ano (seca ou chuva). O sistema de condução foi analisado em 2 níveis (latada ou espaldeira), montados em repetições de 5 linhas. A estação do ano foi analisada em 4 níveis (seca ano 1, chuva ano 1, seca ano 2, chuva ano 2). No presente estudo, estas estações do

ano corresponderam aos meses de setembro/outubro de 2013, fevereiro/março de 2014, setembro/outubro de 2014 e fevereiro/março de 2015, respectivamente.

Assim, para análise de fitoquímicos, o delineamento experimental foi fatorial no esquema fatorial 2 x 5 x 2 X 2, com dois tratamentos (latada e espaladeira), cinco repetições (cinco linhas) por tratamento, duas estações do ano (seca e chuva), em dois anos ou duas safras (ano 1 e ano 2), em triplicata. Para análise sensorial, o experimento foi realizado segundo o delineamento inteiramente casualizado com quatro amostras de néctares (Latada seca, Latada chuva, espaladeira seca e espaladeira chuva), sendo que foram usadas para análise sensorial apenas as amostras no ano 2.

2.2.1.2. Coleta de amostras

A safra de frutos foi coletada em sua totalidade, nos dois anos de estudo. Os frutos foram coletados caídos do chão (estágio de maturação fisiológica), separadamente por tratamento (latada e espaladeira) e por linha (linhas 1, 2, 3, 4 e 5), duas vezes por semana. Após colhidos os frutos foram contados, pesados em balança semi-analítica, embalados em sacos de polietileno e congelados em freezer a -18° C até a data de processamento. A partir da quantidade e massa de frutos produzidos, que foi registrada semanalmente, foi definido o auge da safra.

O auge da safra foi definido a partir das cinco semanas de maior produtividade em cada uma das estações avaliadas: estações secas (setembro/outubro de 2013 e 2014) e estações chuvosas (fevereiro/março de 2014 e 2015), o que corresponde ao universo de frutos que foram processados.

O processamento dos frutos foi realizado separadamente por semana de produtividade, por tratamento e por linha e seguiu o seguinte procedimento: Após descongelados, os frutos foram higienizados em solução clorada, subdivididos ao

meio, despulpados manualmente e processados em separadora (MDB Braesi Linha Nobre, DES-60) obtendo-se a polpa do fruto já filtrada.

A produtividade semanal média foi de 40 kg de frutos, que renderam aproximadamente 12Kg de polpa. De cada um desses lotes, retirou-se 50 g de polpa filtrada, para compor uma unidade experimental. Assim, a unidade experimental foi composta por 50 g de polpas de frutos colhidos nas cinco semanas mais produtivas de cada período seco ou chuvoso (auge da safra), perfazendo um total de 250 g de polpa por linha. As unidades experimentais ficaram armazenadas em freezer a -80°C até o momento das análises químicas.

Para os testes sensoriais, utilizaram-se apenas as polpas do segundo ano de safra (seca de 2014 e chuva de 2015). Para cada tratamento (latada seca, latada chuva, espaladeira seca e espaladeira chuva), foi processado um *pool* com um litro de cada umas das cinco linhas por tratamento (latada ou espaladeira, seca ou chuva), perfazendo cinco litros de polpa *in natura*, devidamente reservada em freezer -80° C.

2.2.2. MÉTODOS

2.2.2.1. Dados Climatológicos

Os dados meteorológicos foram obtidos na estação climática principal da Embrapa Cerrados, localizada em Planaltina (Distrito Federal), com coordenadas geográficas 15° 35' 30" de latitude Sul, 47° 42' 30"W de longitude Oeste, com altitude de 1007 metros. Os dados de temperatura máxima diária (°C), temperatura mínima diária (°C), temperatura média (°C), umidade relativa do ar (%), insolação total (horas) e precipitação (mm/dia) foram obtidos por meio de uma estação automática composta por sensores eletrônicos (Campbell scientific®) instalados no campo experimental.

As condições climáticas foram analisadas, de acordo com o ciclo de vida de *P. setacea*, que compreende três etapas: antese, desenvolvimento do fruto e

amadurecimento do fruto, durante cerca de seis semanas (Ataíde, Oiveira & Ruiggeiro, 2012).

2.2.2.2. Umidade da polpa de *Passiflora setacea*

A análise de umidade das polpas de *Passiflora* foi realizada pelo método da estufa a 105 °C até peso constante, seguindo os procedimentos gravimétricos (A.O.A.C., 2006). A determinação foi realizada em triplicata e os resultados expressos em percentual.

2.2.2.3. Análises físico-químicas e químicas

As análises físico-químicas e químicas de acidez total titulável (ATT), potencial hidrogeniônico (pH), sólidos solúveis totais (SST), vitamina C total, flavonoides totais e testes sensoriais foram realizadas nas polpas de *P. setacea in natura* (após descongelamento), enquanto as análises de compostos fenólicos totais, carotenoides totais, taninos condensados, e determinação de atividade antioxidante total pelo método de captura do radical livre DPPH (2,2-difenil-1-picrilhidrazil) e método de habilidade antioxidante de reduzir o sal férrico (FRAP - “Ferric-Reducing Antioxidant Power”) – foram realizadas em amostras de polpas liofilizadas. O preparo de extratos para quantificação de flavonoides também utilizou amostras liofilizadas.

2.2.2.3.1. Potencial hidrogeniônico (pH)

A determinação de potencial hidrogeniônico (pH) foi realizada com pHmetro HI8014 (Hanna Instruments), previamente calibrado com as soluções de calibração pH 4,0 e 7,0, por leitura direta de 10 mL de amostra de polpa *in natura*, de acordo com o A.O.A.C. (2006) (Anexo 2).

2.2.2.3.2. Acidez total titulável (ATT)

A acidez total titulável (ATT) foi determinada por titulação com NaOH 0,1N, utilizando uma solução de fenolftaleína 1% como indicador e expressa em mL de NaOH 0,1N por 100 gramas de amostra. Os resultados foram expressos em porcentagem da acidez titulável em ácido cítrico (%) (A.O.A.C., 2006), conforme apresentado no Anexo 3.

2.2.2.3.3. Análise de sólidos solúveis totais

Para fins de controle de qualidade, o teor de sólidos solúveis totais é, usualmente determinado pelo valor obtido pelo uso de um refratômetro convertido para uma escala de sólidos solúveis, assumindo-se que esses consistem predominantemente de açúcares solúveis (Pineli., 2009)

O procedimento consistiu em agitar a polpa até homogeneizar completamente a amostra em temperatura ambiente, colocar uma ou duas gotas da mistura no refratômetro e ler o resultado. O teor de sólidos solúveis totais foi determinado utilizando-se refratômetro de mesa modelo QUIMISR e os resultados foram expressos em °Brix (A.O.A.C., 2006) conforme apresentado no Anexo 4.

2.2.2.3.4. Ratio

O ratio (SST/ATT) foi obtido através da divisão dos resultados dos teores de sólidos solúveis totais (°Brix) e da acidez total titulável (% ácido cítrico). Levando em consideração que a relação indica equilíbrio entre os dois componentes, o mercado especifica o conteúdo mínimo de sólidos solúveis totais (SST) e a acidez máxima para determinar a sua qualidade.

2.2.2.3.5. Determinação de Carotenoides Totais

A extração de carotenoides foi realizada segundo Rodriguez-Amaya (2001) (Anexo 5).

Para o cálculo da concentração de carotenoides totais (Ct) foi utilizada a seguinte fórmula:

$$Ct (\mu\text{g} /\text{g}) = A \times V \times 104$$

$$E1\%1\text{cm} \times m$$

A = absorvância no pico máximo de absorção

V = volume final da amostra (mL)

m = massa da amostra (g)

E1%1cm = coeficiente de extinção (β -caroteno = 2592 em éter de petróleo, Isler et al., 1956)

2.2.2.3.6. Vitamina C Total por Cromatografia Líquida de Alta Eficiência (HPLC)

A metodologia de extração de ácido ascórbico foi realizada conforme de Campos *et al.* (2009) (Anexo 6). As amostras foram mantidas protegidas contra a luz solar e luz artificial durante todo o período de análise, utilizando material de vidro âmbar ou papel alumínio.

2.2.2.3.6.1. Conversão de ácido desidroascórbico (DHA) em ácido ascórbico (AA)

A conversão do DHA a AA foi realizada conforme metodologia Campos et al. (2009). A quantificação do DHA foi realizada por diferença do conteúdo de AA total (após a conversão do DHA a AA) e do conteúdo de AA (antes da conversão de DHA). DTT foi utilizado como agente redutor DHA. A reação foi processada por 15 min em

temperatura ambiente ao abrigo de luz. A injeção cromatográfica foi realizada imediatamente após a reação de conversão.

2.2.2.3.6.2. Determinação de ácido ascórbico total por HPLC

Para análise de AA total empregou-se a metodologia descrita por Franke et al. (2004), com alterações. A fase móvel foi composta por: 1 mM de fosfato monobásico de sódio (NaH_2PO_4) (0,0120 g para cada 100 mL) e 1 mM EDTA (0,0294 g para cada 100 mL), pH ajustado para 3,0 com ácido fosfórico (H_3PO_4). O fluxo foi ajustado para 1 mL/min, em eluição isocrática, com volume de injeção de 15 μL , por 10 min. A detecção foi realizada a 245 nm e a separação feita em coluna Lichospher 100 RP 18 250 mm x 4 mm, 5 μm (Merck, Alemanha). A identificação e quantificação do AA nas amostras foi realizada por comparação dos tempos de retenção obtidos nas amostras com os obtidos para na curva padrão de AA, analisados sob as mesmas condições (tempo de retenção, $T_R = 3,9$ min).

2.2.2.3.7. Análise de flavonoides totais

A análise de flavonoides totais foi realizada conforme o método espectrofotométrico de Lees e Francis (1972), com leitura em comprimento de onda de 374 nm, conforme apresentado no Anexo 7. Para o cálculo de flavonoides totais, utilizou-se o fator 76,6 e os resultados foram expressos em miligramas de quercetina por 100 g de base úmida (mg Q/100 g BU).

2.2.2.3.8. Teor de fenólicos totais, taninos condensados e atividade antioxidante

2.2.2.3.8.1. Preparo de extratos para determinação de compostos fenólicos totais, atividade antioxidante por DPPH (Diphenyl-1-

picrylhydrazyl) e *Ferric Reducing Antioxidant Power (FRAP)* e taninos condensados

Os extratos de amostras foram preparados conforme Larrauri *et al.* (1997), com adaptações. Os extratos foram preparados com polpa liofilizada, com uma extração com metanol 50% seguida de três extrações com acetona 50%, conforme Anexo 8. Os extratos foram filtrados, armazenados em vidro âmbar e mantidos a -80°C até o momento das análises. O extrato obtido foi utilizado para determinação de compostos fenólicos totais, taninos condensados e atividade antioxidante por DPPH e FRAP.

2.2.2.3.8.2. Análise de Fenólicos Totais

A análise de fenólicos totais foi realizada utilizando-se o reagente Folin-Ciocalteu conforme Singleton e Rossi (1965) (Anexo 9). Os resultados foram expressos em miligramas de ácido gálico equivalente por 100g de peso fresco (mg AGE/100g BU).

2.2.2.3.8.3. Determinação de taninos condensados pelo método DMAC

O reagente 4-*dimethylaminocinnamaldehyde* (DMAC, Sigma Chemical Co., St. Louis, EUA) foi utilizado para determinação de taninos condensados, de acordo com Prior *et al.* (2010), com adaptações (Anexo 10). Os resultados foram expressos como mg equivalente de procianidina B2/g de amostra (mg PB2/g BU).

2.2.2.3.8.4. Atividade Antioxidante Total por DPPH (2,2-Diphenyl-1-picrylhydrazyl)

A atividade antioxidante pela captura do radical DPPH (2,2-difenil-1-picrilhidrazil) foi determinada de acordo com Brand-Williams (1995), com modificações

(Anexo 11). A absorbância foi mensurada a 517 nm após 25 minutos de reação, com incubação ao abrigo da luz. Este é o tempo em que o decréscimo da absorbância estabiliza.

A capacidade antioxidante por DPPH consiste na redução do radical 2,2 difenil-1-picrilhidrazil (DPPH•) através da doação de um átomo de hidrogênio pelos antioxidantes da amostra à molécula do radical, gerando um decréscimo da absorbância lida no comprimento de onda a 517nm.

Os resultados foram expressos em EC 50, ou seja, a quantidade de antioxidante necessária para reduzir a concentração inicial de DPPH em 50%. Os resultados de DPPH foram expressos em grama de polpa de *P. setacea* (massa fresca) por grama de DPPH e em equivalente de trolox ($\mu\text{mol TE/g BU}$).

2.2.2.3.8.5. Análise de Atividade Antioxidante Total por Ferric Reducing Antioxidant Power (FRAP)

O teste de atividade antioxidante por FRAP foi realizado de acordo com Benzie e Strain (1996) e modificações propostas por Pulido *et al.* (2000). Os resultados foram expressos em trolox equivalente por grama de peso fresco ($\mu\text{mol TE/g BU}$). O protocolo detalhado para a determinação do potencial antioxidante por FRAP encontra-se no Anexo 12.

2.2.2.3.9. Determinação de flavonoides

2.2.2.3.9.1. Preparo de extratos

Os extratos foram preparados utilizando-se etanol 50%, conforme apresentado no anexo 14. Os extratos foram mantidos em freezer a -80°C até o dia da análise. No dia da análise, os extratos foram adicionados de solução de HCl 1,2N e BHT (0,4g/L).

De acordo com Merken e Beecher (2000), com este procedimento é possível hidrolisar os possíveis açúcares ligados aos grupamentos hidroxilas dos compostos, obtendo-se os mesmos em sua forma aglicona, semelhantemente aos padrões adquiridos (Sigma Aldrich Co., St Louis, MO, EUA).

2.2.2.3.9.2. Equipamento e condições cromatográficas

A quantificação dos flavonoides foi realizada por meio de cromatografia líquida de alta eficiência (HPLC) de acordo com Arabbi *et al.* (2004) com algumas modificações, conforme apresentado no Anexo 13. Foi utilizado um sistema de cromatografia Shimadzu LC 20-AD, composto por duas bombas (modelo LC 20-AT), um injetor automático (modelo 9SIL-20AD) e forno (modelo CTO-20AS), acoplados a um detector espectrofotométrico UV visível (modelo SPD-M20A) e a um computador equipado com o programa de análise cromatográfica Shimadzu LC. A separação cromatográfica das amostras foi obtida numa coluna de fase reversa Lichospher 100 RP18, 250 mm 4 mm, 5 mm (Merck, Alemanha). A temperatura da coluna foi mantida a 40° C e o volume de injeção foi de 15 µL. Orientina, Isoorientina, Vitexina, Isovitexina e Hespéritina dissolvidas em metanol (50%) foram empregadas como padrões de referência (curva de 0 a 1000 µg / mL).

Orientina, Isoorientina, Vitexina, Isovitexina foram quantificados usando uma corrida isocrática com 80% de solvente A (água / tetrahydrofurano / ácido trifluoracético 99,79: 0,2: 0,01) e 20% de solvente B (acetonitrila HPLC 100%) em 0,5 mL / min de fluxo para 25 min. Os flavonoides foram detectados a 270 nm, 340 nm e 370 nm. Foram preparadas soluções padrão (10, 20, 40, 60, 80 e 100 µg / mL) a partir de soluções padrão de cada flavonoide (1000 µg / mL).

A hesperetina foi quantificada usando uma eluição isocrática utilizando 70% de solvente A (água / tetrahydrofurano / ácido trifluoracético 99,79: 0,2: 0,01) e 30%

de solvente B (acetonitrila HPLC 100%), volume de injeção 15,0 µL e fluxo de 0,5 mL/min durante 30 minutos. A hesperetina foi detectada a 270 nm. A curva de hesperetina foi preparada com 50, 100, 200, 400, 600, 800 e 1000 µg / mL.

Os flavonoides foram identificados pela comparação de seus espectros de UV-vis e tempos de retenção com padrões. Os resultados foram expressos em miligramas por grama de peso seco (mg/g BS) da polpa de *P. setacea*.

2.2.2.4. Análise Sensorial

Este projeto foi aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa da Universidade de Brasília, número 01988112.1.3001.0029.

2.2.2.4.1. Amostras

Para o teste sensorial, foi definido um outro delineamento experimental, com experimento inteiramente casualizado com quatro amostras de néctares preparadas com quatro polpas de *P. setacea*, descritas anteriormente (item 2.2.3). As polpas foram: espaladeira seca (A), espaladeira chuva (B), latada seca (C) e latada chuva (D).

A partir das polpas A, B, C e D foram preparadas amostras de néctares de *Passiflora setacea*, conforme descrito abaixo:

- Espaladeira seca - *Espalier dry season* (ED),
- Espaladeira chuva- *Espalier rainy season* (ER),
- Latada seca - *Trellis dry season* (TD),
- Latada chuva - *Trellis rainy season* (TR),

Os néctares foram preparados usando 33% de polpa (A, B, C ou D) e 4,5% de açúcar, cuja concentração foi definida previamente por meio de teste de limiar de detecção, conforme apresentado no anexo 14.

Pelo teste de determinação do limiar de detecção (Prescott *et al.*, 2005), observou-se que a diferença de doçura perceptível ocorreu entre néctar de concentração média (8% de açúcar) e o néctar com redução de 4,0%. Assim, optou-se por adoçar os néctares com 4,5%, a fim de usar uma quantidade mínima de açúcar, porém numa concentração em que a doçura ainda é percebida, com o objetivo de equilibrar a acidez do néctar, tornando-o levemente doce sem mascarar as outras características.

Foram realizados dois testes sensoriais na mesma sessão:

a) Teste de aceitação: com objetivo de verificar se há diferença na aceitação sensorial das amostras de néctares de *Passiflora setacea* cultivadas no sistema de condução latada ou espaldeira, nos períodos de seca ou chuva.

b) Teste descritivo (*Check all that apply* - CATA): com objetivo de verificar se há diferença em atributos sensoriais entre as amostras de néctares *Passiflora setacea* avaliados.

2.2.2.4.2. Teste de aceitação

2.2.2.4.3. Avaliadores

Participaram do teste de aceitação global 129 participantes, conforme o recomendado por Ares, G., Etchemendy, E., *et al.* (2014) e Hough *et al.* (2006). Os avaliadores foram recrutados levando-se em consideração a frequência de consumo de refresco *in natura* ou néctar industrializado de maracujá, sendo necessário para participar do teste um consumo mínimo de uma vez ao mês.

O teste de aceitação foi realizado em local central, na Universidade de Brasília (UnB), no Instituto Central de Ciências (ICC), caracterizado pela diversidade do público frequentante, representado por todas as áreas do conhecimento.

Após assinatura do termo de consentimento livre esclarecido (Anexo 15) e do preenchimento da ficha de recrutamento (Anexo 16), os consumidores seguiram para os testes sensoriais. Os participantes receberam aproximadamente 30 mL de cada uma das quatro amostras (ED, ER, TD e TR) em temperatura de $10^{\circ}\text{C} \pm 1$. As amostras foram servidas em um copo plástico codificado com um número de três dígitos aleatórios. As amostras foram apresentadas aos consumidores em sequência monádica, em blocos completos randomizados. Foram servidos água e biscoito salgado juntamente às amostras, para limpeza das papilas gustativas.

O teste de aceitação global das amostras de polpa de *P. setacea* foi realizado utilizando-se a escala hedônica estruturada de 9 pontos.

2.2.2.4.4. Teste Descritivo (*Check all that apply*)

Após atribuir sua nota hedônica, o avaliador era orientado a preencher o formulário *Check all that apply* (CATA) (Anexo 17). Quando necessário, era disponibilizado ao avaliador uma porção maior da amostra para que o mesmo finalizasse sua avaliação descritiva. O teste *Check all that apply* (CATA) foi utilizado para caracterização descritiva de polpas de *P. setacea* (Ares, Barreiro, *et al.*, 2010; Giacalone, 2013) O método CATA consiste em apresentar amostras a serem avaliadas acompanhadas de uma lista de descritores pré-definidos. Os descritores considerados adequados para descrever o produto devem ser marcados (“check”) pelo avaliador.

2.2.2.4.4.1. Definição de Descritores

Os descritores que compuseram a ficha de análise sensorial CATA foram definidos anteriormente pelo método Repertory Grid (Kelly, 1955). Os candidatos a

participantes da definição de descritores foram selecionados em locais centrais como academias e supermercados, segundo os seguintes critérios de seleção:

- Disponibilidade de tempo para participação em uma sessão de testes sensoriais iniciais e uma reunião para definição dos descritores;
- Ausência de problemas médicos ou uso de medicamentos que alterem a percepção de produtos;
- Consumo mínimo quinzenal de néctar de maracujá *in natura* ou industrializado.

Os testes iniciais consistiam em uma sequência de oito testes triangulares e a avaliação da aptidão em descrever alimentos. A sequência de testes triangulares foi realizada com néctares de maracujá comercial (*Passiflora edulis* Sims) com diferentes concentrações de polpa concentrada e açúcar, conforme mostra o Quadro 1.

Quadro 1. Concentrações de suco e de açúcar utilizadas para testes triangulares para seleção de participantes do levantamento de descritores.

Concentração de suco	Concentração de açúcar
30%	10%
	8%
30%	10%
	12%
50%	10%
	8%
50%	10%
	12%

Foi avaliada também a familiaridade com termos descritivos. Os candidatos foram solicitados a citar um alimento doce, um alimento ácido, um amargo e um salgado.

Foram considerados aptos a participar do levantamento de descritores os avaliadores que acertaram pelo menos 60% dos testes triangulares e que eram familiarizados com termos descritores, com pelo menos 75% de respostas coerentes. Assim, foram selecionados 8 avaliadores para participar do levantamento de descritores em grupo pelo método Repertory Grid.

Primeiramente o pesquisador explicou o objetivo e o procedimento do teste. Em seguida, os avaliadores foram apresentados às amostras de forma triádica, o que caracteriza o método Repertory Grid (Kelly, 1955). Com esta técnica, o participante é apresentado a três amostras, sendo solicitado a citar as características que melhor descrevem as semelhanças entre as amostras do par e as diferenças com a amostra estranha, com aplicação do formulário apresentado na Figura 03.

Por favor, prove as amostras de néctares de maracujá e indique as similaridades e as diferenças entre as amostras quanto à aparência, sabor, aroma e textura.				
	Aparência	Aroma	Sabor	Textura
Similaridades				
Diferenças				

Figura 3. Ficha de análise sensorial- levantamento de descritores pelo método Repertory Grid.

As amostras utilizadas foram uma amostra de refresco de *P. setacea* preparado com 30% de polpa (amostra diferente) e duas amostras de refresco de *P. setacea* preparada com 50% de polpa (amostras similares, uma espaladeira seca e uma latada chuva). Para levantamento de descritores, as amostras não foram adoçadas para evitar que a doçura mascarasse diferenças sutis entre as amostras.

Dessa forma, os participantes puderam contrastar as amostras por bipolaridades, obtendo-se assim os atributos (chamados de constructos) (Kelly, 1955).

Os atributos que foram elencados por cada avaliador foram agrupados para cada amostra e anotados em uma lousa branca. Obteve-se assim uma representação matricial de amostras e atributos que foi avaliada pelo grupo com orientação do moderador para determinar a importância de cada constructo por amostra. Os atributos foram agrupados por contagens de frequência para analisar aqueles que são relevantes e descartar os sinônimos (Van Kleef *et al.*, 2005). Então, através de discussão, os avaliadores chegam a um consenso quanto a quais os melhores descritores (Lawless e Heymann, 2010).

2.2.2.4.4.2. Teste sensorial CATA

O teste CATA foi realizado utilizando-se o formulário CATA de escolha forçada, onde os descritores são apresentados de forma randomizada (entre amostras dentro de um avaliador e entre avaliadores dentro de uma amostra) e os avaliadores selecionam uma entre as alternativas “sim” ou “não” (Ares, G., Etchemendy, E., *et al.*, 2014), apresentado no anexo 17. O teste foi realizado na mesma sessão do teste de aceitação global, descrito anteriormente.

2.2.2.4.4.3. Caracterização dos consumidores

Os dados dos consumidores foram coletados com formulário *on-line* (Anexo 19), utilizando um sistema de coleta de dados comercialmente disponível ("Google Forms", Google Inc., Estados Unidos, 2014). Esses dados incluíram gênero, idade e níveis educacionais, frequência de consumo de maracujá, dados sobre comportamento frente a alimentos funcionais (aceitação, crenças e consumo) e dados de fobia a alimentos novos.

Para simplificar a análise de dados e as comparações, os dados de idade foram condicionados em dois períodos: grupo 1 (menos de 24 anos), grupo 2 (mais de 25 anos). Os níveis de ensino foram classificados como ensino médio, graduação e pós-graduação.

A frequência do consumo de néctar do maracujá foi avaliada com uma escala de frequência de 7 pontos (1 = nunca; 2 = raramente; 3 = uma vez em três meses; 4 = uma vez por mês; 5 = mais do que duas vezes por mês; 6 = uma vez por semana; 7 = duas vezes mais por semana). Avaliou-se também a frequência de consumo de alimentos funcionais por meio de um questionário de consumo de alimentos funcionais conforme (Szakaly *et al.*, 2012), utilizando-se uma escala de frequência de consumo de sete pontos (de 1 = nunca a 7 = sempre). A frequência de consumo de néctar de maracujá e produtos de alimentos funcionais classificou os avaliadores em alto usuários (≥ 4) ou baixo usuários (<3).

Aplicou-se ainda “questionário de aceitação do consumidor de alimentos funcionais: questionário de determinantes cognitivos e atitudinais” (Verbeke, 2005) previamente validado para a população brasileira (Curso (2012)), para avaliação do nível de conhecimento, interesse e consumo de alimentos funcionais. A partir das respostas médias deste questionário, os determinantes cognitivos e atitudinais de alimentos funcionais foram classificados em baixo (<3), médio (= 3) ou alto (> 3) nível.

Para determinar as associações entre o comportamento dos consumidores perante novos alimentos e aceitação dos néctares de *P. setacea*, também foi aplicada uma Escala de Neofobia de Alimentos de 5 pontos (Pliner e Hobden, 1992). Neofóbicos e neofílicos foram classificados de acordo com o índice de neophobia alimentar (FNS), cujo intervalo de pontuações possíveis varia entre 10 e 50 pontos.

2.2.2.5. Análise estatística

Os dados de análises químicas foram analisados por análise de variância – ANOVA fatorial ($p < 0,05$). Quando encontrada diferença significativa, foi aplicado teste de Tukey (comparação de médias) para localização das diferenças entre os tratamentos ($p < 0,05$). Utilizou-se o sistema de condução, o ano e estação do ano como fontes fixas de variação, considerando-se ainda suas interações.

As médias de aceitação dos consumidores foram analisadas usando ANOVA fatorial para verificar as diferenças entre as amostras considerando-se o efeito dos seguintes fatores: sistema de treinamento (fixo), estação (fixo), consumidor (aleatório) e interação entre o sistema de treinamento e a estação. Diferenças significativas foram verificadas com o teste de Tukey ($p \leq 0,05$).

Para identificar grupos de consumidores com padrões de preferência semelhantes, a análise hierárquica de *cluster* foi realizada em dados de aceitação global. Distâncias euclidianas e método de agregação de Ward e truncamento automático foram aplicados. Após o agrupamento, as médias dos *clusters* foram submetidos à ANOVA e ao teste de Tukey ($p < 0,05$). O teste t de Student para amostras independentes foi realizado para comparar a aceitação das amostras dentro de cada clusters.

Os dados do CATA foram organizados em matrizes individuais dos avaliadores onde, nas linhas, foram colocadas as amostras e nas colunas, os atributos tabulados dicotomicamente atribuindo-se "zero" quando o avaliador marca "não" e "um" quando o avaliador marca "sim". A frequência de uso de cada descritor foi determinada contabilizando-se o número de avaliadores que usaram aquele descritor para caracterizar cada amostra, obtendo-se assim a tabela de frequência global de atributos por amostra.

Para o CATA e aplicou-se o teste Q de Cochran para cada descritor para avaliar se houve diferenças ($p \leq 0,05$) na percepção do consumidor sobre os néctares. Foram realizadas comparações múltiplas em pares utilizando o McNemar (Bonferroni). O teste Q de Cochran é um teste estatístico não-paramétrico usado para análise de blocos randomizados com variáveis binárias (Varela e Ares, 2012), que foi usado para avaliar se os consumidores percebem diferenças significativas entre as amostras. A partir dos mapas gerados pela análise de correspondência, foi possível visualizar as similaridades e diferenças entre as amostras e os atributos que as caracterizam.

A existência de diferenças entre as variáveis climatológicas das estações do ano foi analisada por meio do teste t de Student para amostras independentes.

Os dados de frequências de respostas dos *clusters* (idade, frequência de consumo de maracujá, neofobia, conhecimento, interesse e consumo de alimentos funcionais) foram comparados utilizando o teste de qui-quadrado (teste Z, com 5% de nível de significância).

Todas as análises estatísticas foram realizadas com o software XLSTAT 2016 (Addinsoft, França).

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

A.O.A.C., **Official methods of the AOAC**. Washington, DC: Association of Official Analytical Chemist, 2006.

ABADIO FINCO, F. D. B.; SILVA, I. G.; OLIVEIRA, R. B. D. Physicochemical characteristics and antioxidant activity of three native fruits from brazilian savannah (cerrado). **Brazilian Journal of Food & Nutrition/Alimentos e Nutrição**, v. 23, n. 2, 2012. ISSN 0103-4235.

ALI, M. B.; KHANDAKER, L.; OBA, S. Comparative study on functional components, antioxidant activity and color parameters of selected colored leafy vegetables as affected by photoperiods. **J Food Agric Environ**, v. 7, p. 392-398, 2009.

ALMEIDA, D. F. L. S. **Estudo das Vias Metabólicas das Plantas na Síntese de Pigmentos Naturais**. Porto, Portugal, p.61. 2017

ALVES, A. M. et al. Ascorbic acid and phenolic contents, antioxidant capacity and flavonoids composition of Brazilian Savannah native fruits. **Food Science and Technology (Campinas)**, n. AHEAD, p. 0-0, 2017. ISSN 0101-2061.

ALVES, C. Q. et al. Métodos para determinação de atividade antioxidante in vitro em substratos orgânicos. **Quím. Nova**, v. 33, n. 10, p. 2202-2210, 2010. ISSN 0100-4042.

ANVISA. **Portaria n° 386, de 26 de setembro de 2005. Altera a denominação e a composição da Comissão instituída pela Portaria n° 15 ANVISA, de 30 de abril de 1999 para Comissão de Assessoramento Tecnocientífico em Alimentos com Alegação de Propriedades Funcional e ou de Saúde e Novos Alimentos**. SANITÁRIA., A. N. D. V.

ARABBI, P. R.; GENOVESE, M. I.; LAJOLO, F. M. Flavonoids in vegetable foods commonly consumed in Brazil and estimated ingestion by the Brazilian population. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 52, n. 5, p. 1124-1131, 2004. ISSN 0021-8561.

ARAÚJO NETO, S. E. et al. Organic polyculture of passion fruit, pineapple, corn and cassava: the influence of green manure and distance between espaliers. **Ciência e Agrotecnologia**, v. 38, n. 3, p. 247-255, 2014. ISSN 1413-7054.

ARES, G. et al. Application of a check - all - that - apply question to the development of chocolate milk desserts. **Journal of Sensory Studies**, v. 25, n. s1, p. 67-86, 2010. ISSN 1745-459X.

ARES, G. et al. Evaluation of a rating-based variant of check-all-that-apply questions: Rate-all-that-apply (RATA). **Food Quality and Preference**, v. 36, p. 87-95, 2014. ISSN 0950-3293.

ARES, G. et al. Visual attention by consumers to check-all-that-apply questions: Insights to support methodological development. **Food Quality and Preference**, v. 32, p. 210-220, 2014. ISSN 0950-3293.

ARES, G.; GIMÉNEZ, A.; DELIZA, R. Influence of three non-sensory factors on consumer choice of functional yogurts over regular ones. **Food Quality and Preference**, v. 21, p. 6, 2010.

ARES, G.; JAEGER, S. R. Check-all-that-apply questions: Influence of attribute order on sensory product characterization. **Food Quality and Preference**, v. 28, n. 1, p. 141-153, 2013. ISSN 0950-3293.

ARES, G.; JAEGER, S. R. A comparison of five methodological variants of emoji questionnaires for measuring product elicited emotional associations: An application with seafood among Chinese consumers. **Food Research International**, 2017. ISSN 0963-9969.

ATAÍDE, E.; OIVEIRA, J.; RUIGGEIRO, C. Florescimento e frutificação do maracujazeiro silvestre *Passiflora setacea* d. C. cultivado em jaboticabal, sp. **Revista Brasileira Fruticultura** v. 34, n. 2, p. 5, 2012. Disponível em: < <http://www.scielo.br/pdf/rbf/v34n2/09.pdf> >.

BAGCHI, D. Nutraceuticals and functional foods regulations in the United States and around the world. **Toxicology**, v. 221, n. 1, p. 1-3, 2006. ISSN 0300-483X.

BALASUNDRAM, N.; SUNDRAM, K.; SAMMAN, S. Phenolic compounds in plants and agri-industrial by-products: Antioxidant activity, occurrence, and potential uses. **Food chemistry**, v. 99, n. 1, p. 191-203, 2006. ISSN 0308-8146.

BARTZOKA, E. et al. Synthesis of nano and microstructures from proanthocyanidins, tannic acid and epigallocatechin-3-o-gallate for active delivery. **Green Chemistry**, p. 49, 2017.

BERNAL, J. **El cultivo de la granadilla *Passiflora ligularis***. Memorias Primer Simposio Internacional de Pasifloras. Palmira, Colombia.: 153-163 p. 1990.

BIAN, Z. H.; YANG, Q. C.; LIU, W. K. Effects of light quality on the accumulation of phytochemicals in vegetables produced in controlled environments: a review. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, v. 95, n. 5, p. 869-877, 2015. ISSN 1097-0010.

BOMTEMPO, L. et al. Bioactive amines in *Passiflora* are affected by species and fruit development. **Food Research International**, v. 89, n. 1, p. 5, 2016.

BRAMLEY, P. Regulation of carotenoid formation during tomato fruit ripening and development. **Journal of experimental botany**, v. 53, n. 377, p. 2107-2113, 2002. ISSN 1460-2431.

BRAND-WILLIAMS, W. C., M.E.; BERSET, C. Use of a free radical method to evaluate antioxidant activity. **Lebensmittel-Wissenschaft und-Technologie** 28, v. 28, n. 1, p. 6, 1995.

BURLINGAME, B.; MOUILLÉ, B.; CHARRONDIÈRE, R. Nutrients, bioactive non-nutrients and anti-nutrients in potatoes. **Journal of Food Composition and Analysis**, v. 22, n. 6, p. 494-502, 2009. ISSN 0889-1575.

CAMPOS, A. **Características físico-químicas e composição mineral de polpa de *Passiflora setacea***. à Faculdade de Agronomia– Universidade de Brasília. . 2010

- CAMPOS, F. et al. Handling Practices to Control Ascorbic Acid and b-Carotene Losses in Collards (*Brassica oleracea*). **Food Sci Tech Int** v. 15, n. 5, p. 7, 2009.
- CARDELLO, A. V. et al. Predictors of food acceptance, consumption and satisfaction in specific eating situations. **Food Quality and Preference**, v. 11, n. 3, p. 201-216, 2000. ISSN 0950-3293.
- CAVALCANTE, U. M. T. et al. Respostas fisiológicas em mudas de maracujazeiro amarelo (*Passiflora edulis* Sims. f. *flavicarpa* Deg.) inoculadas com fungos micorrízicos arbusculares e submetidas a estresse hídrico. **Acta botânica brasileira**, v. 15, n. 3, p. 379-390, 2001.
- CAZZONELLI, C.; POGSON, B. Source to sink: regulation of carotenoid biosynthesis in plants. **Trends in plant science**, v. 15, n. 5, p. 266-274, 2010. ISSN 1360-1385.
- CERVI, A. C. Espécies de *Passiflora* L. (Passifloraceae) publicadas e descritas nos últimos 55 anos (1950-2005) na América do Sul e principais publicações brasileiras. **Estudos de Biologia**, v. 27, p. 19-24, 2005.
- CHANG, Y. et al. Bioconverted Jeju Hallabong tangor (*Citrus kiyomi* × *ponkan*) peel extracts by cytolase enhance antioxidant and anti-inflammatory capacity in RAW 264.7 cells. **Nutrition research and practice**, v. 10, n. 2, p. 131-138, 2016. ISSN 1976-1457.
- CHOI, E.; AHN, W. Neuroprotective effects of chronic hesperetin administration in mice. **Archives of pharmacal research**, v. 31, n. 11, p. 1457-1462, 2008. ISSN 0253-6269.
- CONKLIN, P. L. Recent advances in the role and biosynthesis of ascorbic acid in plants. **Plant, Cell & Environment**, v. 24, n. 4, p. 383-394, 2001. ISSN 1365-3040.
- CORSO, P. B., M. Tradução e validação para a língua portuguesa de questionário sobre fatores cognitivos e comportamentais que afetam a aceitação de alimentos funcionais. **Alim. Nutr., Araraquara**, v. 23, n. 1, p. 6, 2012. ISSN 0103-4235. Disponível em: < <http://serv-bib.fcfar.unesp.br/seer/index.php/alimentos/article/viewFile/1825/1825> >.
- CORTELL, J. M.; KENNEDY, J. A. Effect of shading on accumulation of flavonoid compounds in (*Vitis vinifera* L.) pinot noir fruit and extraction in a model system. **J Agric Food Chem**, v. 54, n. 22, p. 8510-20, Nov 01, 2006. ISSN 0021-8561 (Print) 0021-8561 (Linking). Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/17061828> >.
- COSTA, A. M. et al. Produção de mudas de maracujazeiro silvestre (*Passiflora setacea*). **Embrapa Cerrados-Comunicado Técnico (INFOTECA-E)**, 2016.
- COSTA, A. M. et al. **Propriedades físico-químicas de maracujás cultivados nos sistemas orgânico e convencional, em consórcio com a mandioca**. *Embrapa comunicado técnico 158*. EMBRAPA. Planaltina, DF. 2008.
- COSTA, A. M.; DE MORAIS, K. L.; DOS SANTOS, F. E. **Influência do tipo de condução na qualidade físico-química da polpa do brs pérola do cerrado (passiflora setacea)**. XXIII Congresso Brasileiro de Fruticultura. Cuiabá, MT, Brazil. 2014.
- COSTA, A. M. C. et al. **Características físico-química-funcional da polpa de passiflora**

setacea recém processada e congelada. Embrapa Cerrados, 2008.

COURTES, A. A. et al. Protective effects of aqueous extract of *Luehea divaricata* against behavioral and oxidative changes induced by 3-nitropropionic acid in rats. **Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine**, v. 2015, 2015. ISSN 1741-427X.

DA COSTA, A. V. et al. Neuroprotective effects of *Pouteria ramiflora* (Mart.) Radlk (Sapotaceae) extract on the brains of rats with streptozotocin-induced diabetes. **Metabolic brain disease**, v. 28, n. 3, p. 411-419, 2013. ISSN 0885-7490.

DE SOUZA, V. R. et al. Determination of bioactive compounds, antioxidant activity and chemical composition of Cerrado Brazilian fruits. **Food chemistry**, v. 134, n. 1, p. 381-386, 2012. ISSN 0308-8146.

DEWICK, P. M. **Medicinal natural products: a biosynthetic approach.** 3. England: John Wiley & Sons, 2009. ISBN 0471496413.

DIDIER, C. Growing passion fruit. **Tropical Fruits Newsletter**, v. 38, n. 39, p. 24-27, 2001.

DIPLOCK, A. P. et al. Scientific concepts of functional foods in Europe: consensus document. **British journal of nutrition**, v. 81, n. 1, p. 1-27, 1999.

DIXON, R.; LIU, C. W.; JUN, J. Metabolic engineering of anthocyanins and condensed tannins in plants. **Current Opinion in Biotechnology**, v. 24, n. 2, p. 329-335, 2013. ISSN 0958-1669.

DONADO-PESTANA, C. M.; BELCHIOR, T.; GENOVESE, M. I. Phenolic compounds from cagaita (*Eugenia dysenterica* DC.) fruit prevent body weight and fat mass gain induced by a high-fat, high-sucrose diet. **Food Research International**, v. 77, p. 177-185, 2015. ISSN 0963-9969.

DONATO, F. et al. Hesperidin exerts antidepressant-like effects in acute and chronic treatments in mice: Possible role of L-arginine-NO-cGMP pathway and BDNF levels. **Brain research bulletin**, v. 104, p. 19-26, 2014. ISSN 0361-9230.

DOOLEY, L.; LEE, Y.; MEULLENET, J. F. The application of check-all-that-apply (CATA) consumer profiling to preference mapping of vanilla ice cream and its comparison to classical external preference mapping. **Food quality and preference**, v. 21, n. 4, p. 394-401, 2010. ISSN 0950-3293.

DRAKE, M. A. Invited review: Sensory analysis of dairy foods. **Journal of dairy science**, v. 90, n. 11, p. 4925-4937, 2007. ISSN 0022-0302.

ELHADI, M. Y. **Tannins in Fruits and Vegetables: Chemistry and Biological Functions.** John Wiley & Sons, 2017, 2017. 1488 ISBN 1119157943.

EMBRAPA. **A cultura do maracujá.** 3. Brasília, DF Embrapa Informação Tecnológica, 2006.

FALEIRO, F. G.; JUNQUEIRA, N. T.; BRAGA, M. F. Maracujá: germoplasma e melhoramento genético. **Embrapa Cerrados-Livros científicos (ALICE)**, 2005.

FALEIRO, F. G.; JUNQUEIRA, N. T. V.; BRAGA, M. F. **Maracujá: germoplasma e melhoramento genético**. Planaltina, DF: Embrapa Cerrados, 2005.

FAO, F. A. O. **Expert consultation on nutrition indicators for biodiversity 2- Food Consumption**. NATIONS, F. A. A. O. O. T. U. Roma 2010.

FIGUEIRÓ, R. et al. Diversity and microdistribution of black fly (Diptera: Simuliidae) assemblages in the tropical savanna streams of the Brazilian cerrado. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**, v. 107, n. 3, p. 362-369, 2012. ISSN 0074-0276.

FISCHER, G. Aspectos de la fisiología aplicada de los frutales promisorios en cultivo y poscosecha. **Rev. Comalfi**, v. 32, n. 1, p. 22-34, 2005.

FISCHER, G.; CASIERRA-POSADA, F.; PIEDRAHÍTA, W. Ecofisiología de las especies pasifloráceas cultivadas en Colombia. **Cultivo, poscosecha y comercialización de las pasifloráceas en Colombia: maracuyá, granadilla, gulupa y curuba**. Sociedad Colombiana de Ciencias Hortícolas. Bogotá, Colombia, p. 45-67, 2009.

FORMAGIO, A. S. et al. The flavonoid content and antiproliferative, hypoglycaemic, anti-inflammatory and free radical scavenging activities of *Annona dioica* St. Hill. **BMC complementary and alternative medicine**, v. 13, n. 1, p. 14, 2013. ISSN 1472-6882.

GADIOLI, I. L. **Obtenção, caracterização química, propriedades antioxidantes e antimicrobianas de extratos de polpas, sementes e folhas de passifloras silvestres para formulação de nanoemulsões**. Brasília. 2017

GAUTIER, H. et al. How does tomato quality (sugar, acid, and nutritional quality) vary with ripening stage, temperature, and irradiance? **J Agric Food Chem**, v. 56, n. 4, p. 1241-50, Feb 27 2008. ISSN 0021-8561 (Print) 0021-8561 (Linking). Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/18237131> >.

GIACALONE, D. **Consumers' perception of novel beers: Sensory, affective, and cognitive-contextual aspects**. Dinamarca, p.269. 2013

GLADSTONE, E. A.; DOKOOZLIAN, N. K. Influence of leaf area density and trellis/training system on the light microclimate within grapevine canopies. **VITIS-GEILWEILERHOF-**, v. 42, n. 3, p. 123-132, 2003. ISSN 0042-7500.

GOMES, S. et al. Accelerated solvent extraction of phenolic compounds exploiting a Box-Behnken design and quantification of five flavonoids by HPLC-DAD in *Passiflora* species. **Microchemical Journal** v. in press, 2016.

GROSSO, G. et al A comprehensive meta - analysis on dietary flavonoid and lignan intake and cancer risk: Level of evidence and limitations. **Molecular nutrition & food research**, v. 61, n. 4, 2017. ISSN 1613-4133.

GUIMARÃES, T. G. et al. **Recomendações técnicas para o cultivo de *Passiflora setacea* cv. BRS Pérola do Cerrado**. EMBRAPA: 6 p. 2013.

HAFLE, O. M. et al. Produtividade e qualidade de frutos do maracujazeiro-amarelo submetido

à poda de ramos produtivos. **Revista Brasileira de Fruticultura**, v. 31, n. 3, p. 7, 2009.

HIRSCHBERG, J. Carotenoid biosynthesis in flowering plants. **Current opinion in plant biology**, v. 4, n. 3, p. 210-218, 2001. ISSN 1369-5266.

IBGE. **Produção agrícola municipal : culturas temporárias e permanentes. ESTATÍSTICA.**, I. B. D. G. E. 43: 57 p. 2016.

IBIAPINA, M. D. D. P. F. Adubação potássica na qualidade e nas propriedades antioxidantes de polpa e de folhas de *Passiflora setacea*. 2016.

IGNAT, I.; VOLF, I.; POPA, V. A critical review of methods for characterisation of polyphenolic compounds in fruits and vegetables. **Food chemistry**, v. 126, n. 4, p. 1821-1835, 2011. ISSN 0308-8146.

IOM. **Dietary Reference Intakes for Vitamin A, Vitamin K, Arsenic, Boron, Chromium, Copper, Iodine, Iron, Manganese, Molybdenum, Nickel, Silicon, Vanadium, and Zinc. MICRONUTRIENTS.**, I. O. M. U. P. O. Washington (DC): National Academies Press (US) 2001.

ISO, I. O. F. S. **Standard 5495: Sensory analysis - Methodology - Paired comparison test.** . International Organization for Standardization 2005.

JAKOPIC, J. et al. Sugar and phenolics level dependent on the position of apple fruitlet in the cluster. **Scientia Horticulturae**, v. 201, p. 5, 2016.

KAISER, E. et al. Dynamic photosynthesis in different environmental conditions. **Journal of experimental botany**, v. 66, n. 9, p. 2415-2426, 2014. ISSN 1460-2431.

KEEG. Luteolin. 2017. Disponível em: < http://www.genome.jp/dbget-bin/www_bget?cpd:C01514 >. Acesso em: out 2017.

KELLY, G. **The Psychology of Personal Constructs.** New York: W. W. Norton & Company Inc, 1955.

KLÄRING, H. P.; KRUMBEIN, A. The effect of constraining the intensity of solar radiation on the photosynthesis, growth, yield and product quality of tomato. **Journal of Agronomy and Crop Science**, v. 199, n. 5, p. 351-359, 2013. ISSN 1439-037X.

KLINK, C. A.; MACHADO, R. B. A conservação do Cerrado brasileiro. **Megadiversidade**, v. 1, n. 1, p. 147-155, 2005.

KOMURO, L. **Efeitos de sistemas de condução sobre o crescimento, produção, qualidade dos frutos e custos de instalação de maracujazeiro amarelo (*Passiflora edulis* Sims, f. *flavicarpa* Deg).** SP p.53. 2008

KU, S.; KWAK, S.; BAE, J. Orientin inhibits high glucose-induced vascular inflammation in vitro and in vivo. **Inflammation**, v. 37, n. 6, p. 2164-2173, 2014. ISSN 0360-3997.

KUMAR, S.; PANDEY, A. K. Chemistry and biological activities of flavonoids: an overview.

The Scientific World Journal, v. 2013, p. 1-16, 2013.

LAGO, J. H. G. et al. Structure-activity association of flavonoids in lung diseases. **Molecules**, v. 19, n. 3, p. 3570-3595, 2014.

LAMBERS, H.; CHAPIN III, S.; PONS, T. **Plant Physiological Ecology**. 2. New York: Springer-Verlag 2008.

LARRAURI, J. A.; RUPÉREZ, P.; SAURA-CALIXTO, F. Effect of drying temperature on the stability of polyphenols and antioxidant activity of red grape pomace peels. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 45, n. 4, p. 3, 1997.

LAWLESS, H.; HEYMANN, H. **Sensory evaluation of food: principles and practices**. New York: Springer-Verlag, 2010. 596.

LEES, D.; FRANCIS, F. Standardization of pigment analyses in cranberries. **HortScience**, 1972.

LEFSRUD, M. G. et al. Biomass production and pigment accumulation in kale grown under increasing photoperiods. **HortScience**, v. 41, n. 3, p. 603-606, 2006. ISSN 0018-5345.

LESSA, A. **Determinação do teor de compostos fitoquímicos e estudo do potencial para processamento da polpa de frutos de maracujá das espécies silvestres (*Passiflora setacea* DC, *Passiflora cincinnata* MAST)**. p.83. 2011

LETERME, P. et al. Mineral content of tropical fruits and unconventional foods of the Andes and the rain forest of Colombia. **Food Chemistry**, v. 95, n. 4, p. 644-652, 2006. ISSN 0308-8146.

LI, F.; VALLABHANENI, R.; WURTZEL, E. PSY3, a new member of the phytoene synthase gene family conserved in the Poaceae and regulator of abiotic stress-induced root carotenogenesis. **Plant Physiology**, v. 146, n. 3, p. 1333-1345, 2008. ISSN 1532-2548.

LI, M. et al. Ascorbate biosynthesis during early fruit development is the main reason for its accumulation in kiwi. **PloS one**, v. 5, n. 12, p. e14281, 2010. ISSN 1932-6203.

LIM, H. et al. Bioconversion of Citrus unshiu peel extracts with cytolase suppresses adipogenic activity in 3T3-L1 cells. **Nutrition research and practice**, v. 9, n. 6, p. 599-605, 2015. ISSN 1976-1457.

LIMA, A. A. **A cultura do Maracujá**. 3. Brasília, DF Embrapa Mandioca e Fruticultura Tropical 2006. 124 ISBN 85-7383-374-2.

LOCATO, V.; CIMINI, S.; DE GARA, L. Strategies to increase vitamin C in plants: from plant defense perspective to food biofortification. **Frontiers in plant science**, v. 4, 2013.

LOPES, R. M. et al. Estudo comparativo do perfil de ácidos graxos em semente de passifloras nativas do cerrado brasileiro. **Revista brasileira de fruticultura**, v. 32, n. 2, p. 498-506, 2010.

LU, N.; SUN, Y.; ZHENG, X. Orientin-induced cardioprotection against reperfusion is

associated with attenuation of mitochondrial permeability transition. **Planta medica**, v. 77, n. 10, p. 984-991, 2011. ISSN 0032-0943.

MACHADO, A. K. et al. Neuroprotective effects of Açáí (Euterpe oleracea Mart.) against rotenone in vitro exposure. **Oxidative medicine and cellular longevity**, v. 2016, 2016. ISSN 1942-0900.

MADALENA, J.; COSTA, A., M.; DE LIMA, H. Avaliação de usos e conhecimentos de maracujás nativos como meio para definição de estratégias de pesquisa e transferência de tecnologia. **Cadernos de Ciência & Tecnologia**, v. 30, n. 1/3, p. 18, 2013. Disponível em: < <http://ainfo.cnptia.embrapa.br/digital/bitstream/item/136902/1/Avaliacao-de-usos-e-conhecimentos.pdf> >.

MAGIORKINIS, E.; BELOUKAS, A.; DIAMANTIS, A. Scurvy: past, present and future. **European Journal of Internal Medicine**, v. 22, n. 2, p. 147-152, 2011. ISSN 0953-6205.

MALTA, L. G. et al. Assessment of antioxidant and antiproliferative activities and the identification of phenolic compounds of exotic Brazilian fruits. **Food research international**, v. 53, n. 1, p. 417-425, 2013. ISSN 0963-9969.

MARTIN, D. et al. Grape cluster microclimate influences the aroma composition of Sauvignon blanc wine. **Food Chem**, v. 210, p. 640-7, Nov 01 2016. ISSN 0308-8146 (Print) 0308-8146 (Linking). Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/27211692> >.

MDITSHWA, A. et al. Phytochemical content, antioxidant capacity and physicochemical properties of pomegranate grown in different microclimates in South Africa. **South African Journal of Plant and Soil**, v. 30, n. 2, p. 81-90, 2013. ISSN 0257-1862.

MEILGAARD, M.; CIVILLE, G. V.; CARR, B. T. **Sensory Evaluation Techniques**. Florida: CRC Press, 2006.

MELETTI, L. M. Avanços na cultura do maracujá no Brasil. **Revista Brasileira de Fruticultura**, v. 33, n. SPE1, p. 83-91, 2011. ISSN 0100-2945.

MELETTI, L. M. M., BRUCKNER, C. H., BRUCKNER, C. H., & PICANÇO, M. **Melhoramento genético. Maracujá: tecnologia de produção, pós-colheita, agroindústria, mercado**. Porto Alegre: Cinco Continentes, 2001.

MENG, J. et al. Effect of rain-shelter cultivation of Vitis vinifera cv. Cabernet gernischt on the phenolic profile of berry skins and the incidence of grape diseases. **Molecules**, v. 18, n. 1, p. 381-397, 2012.

MEYNEERS, M.; CASTURA; CARR, B. Existing and new approaches for the analysis of CATA data. **Food Quality and Preference**, v. 30, n. 2, p. 309-319, 2013. ISSN 0950-3293.

MIELE, A.; MANDELLI, F. Sistemas de condução da videira: latada e espaldeira. **Embrapa Uva e Vinho-Capítulo em livro técnico (INFOTECA-E)**, 2016. Disponível em: < <https://www.infoteca.cnptia.embrapa.br/infoteca/bitstream/doc/1060143/1/Manual3Capitulo3.pdf> >.

MIERZIAK, J.; KOSTYN, K.; KULMA, A. Flavonoids as important molecules of plant interactions with the environment. **Molecules**, v. 19, n. 10, p. 16240-16265, 2014.

MINIM, V. P. R. **Análise Sensorial: Estudos dos consumidores**. Viçosa: Editora UFV, 2010.

MIRANDA, D. **Manejo integral del cultivo de la granadilla (*Passiflora ligularis* Juss.)**. Sociedad Colombiana de Ciencias Hortícolas, Bogota., 2009. 121-157.

MMA. **O Bioma Cerrado**: Ministério do Meio Ambiente 2017.

MPHAHLELE, R. et al. Effect of fruit maturity and growing location on the postharvest contents of flavonoids, phenolic acids, vitamin C and antioxidant activity of pomegranate juice (cv. Wonderful). **Scientia Horticulturae**, v. 179, p. 36-45, 2014. ISSN 0304-4238.

MURAKAMI, K. et al. Caracterização fenológica da videira cv. Itália (*Vitis vinifera* L.) sob diferentes épocas de poda na região norte do estado do rio de janeiro. **Revista Brasileira Fruticultura**, v. 24, n. 3, p. 3, 2002.

MUTHENNA, P. et al. Effect of cinnamon and its procyanidin-B2 enriched fraction on diabetic nephropathy in rats. **Chemico-biological interactions**, v. 222, p. 68-76, 2014. ISSN 0009-2797.

NEVES, C. S. V. J.; CARVALHO, S. K. C. D.; NEVES, P. M. O. J. Porcentagem de frutificação, período de desenvolvimento dos frutos e unidades térmicas para maracujá amarelo. **Revista Brasileira de Fruticultura, Jaboticabal: SP**, v., v. 21, n. 2, p. 3, 1999.

NOGUEIRA, R. C.; DE CERQUEIRA, H.; SOARES, M. Patenting bioactive molecules from biodiversity: the Brazilian experience. **Expert Opinion on Therapeutic Patents**, v. 20, n. 2, p. 145-157, 2010. ISSN 1354-3776.

NOGUEIRA, R. J. M. C.; SANTOS, R. C., DOS. Alterações fisiológicas no amendoim submetido ao estresse hídrico. **Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental**, v. 4, n. 1, p. 41-45, 2000.

OHTSUKI, K. et al. Glucosyl hesperidin improves serum cholesterol composition and inhibits hypertrophy in vasculature. **Journal of nutritional science and vitaminology**, v. 49, n. 6, p. 447-450, 2003. ISSN 0301-4800.

OLIVEIRA, L.; CARVALHO, M.; MELO, L. Health promoting and sensory properties of phenolic compounds in food. **Revista Ceres**, v. 61, p. 15, 2014.

OLIVEIRA, L. L.; CARVALHO, M. V.; MELO, L. Health promoting and sensory properties of phenolic compounds in food. **Revista Ceres**, v. 61, p. 764-779, 2014. ISSN 0034-737X.

OLIVEIRA, V. B. et al. Native foods from Brazilian biodiversity as a source of bioactive compounds. **Food Research International**, v. 48, n. 1, p. 170-179, 2012. ISSN 0963-9969.

OTHMAN, R.; ZAIFUDDIN, F.; HASSAN, N. Carotenoid biosynthesis regulatory mechanisms in plants. **Journal of oleo science**, v. 63, n. 8, p. 753-760, 2014. ISSN 1345-8957.

- PARADISO, A. et al. Galactone - γ - lactone - dependent ascorbate biosynthesis alters wheat kernel maturation. **Plant Biology**, v. 14, n. 4, p. 652-658, 2012. ISSN 1438-8677.
- PASSAMONTI, S. et al. Bioavailability of Flavonoids: A Review of Their Membrane Transport and the Function of Bilitranslocase in Animal and Plant Organisms. **Current Drug Metabolism**, v. 10, p. 369-394, 2009.
- PEREIRA, R. D. et al. Teor de carotenoides e características pós-colheita de frutos de *Passiflora setacea* D. C. **Revista Iberoamericana de Tecnología Postcosecha**, v. 15, n. 2, 2014. ISSN 1665-0204.
- PETERLUNGER, E. et al. Effect of training system on Pinot noir grape and wine composition. **American Journal of Enology and Viticulture**, v. 53, n. 1, p. 14-18, 2002. ISSN 0002-9254.
- PETRUSSA, E. et al. Plant flavonoids—biosynthesis, transport and involvement in stress responses. **International journal of molecular sciences**, v. 14, n. 7, p. 14950-14973, 2013.
- PINELI, L. et al. Antioxidants and other chemical and physical characteristics of two strawberry cultivars at different ripeness stages. **Journal of Food Composition and Analysis**, v. 24, p. 6, 2011.
- PINELI, L. **Qualidade e potencial antioxidante in vitro de morangos in natura e submetidos a processamentos**. Brasília, DF, p.222. 2009
- PLINER, P.; HOB DEN, K. Development of a scale to measure the trait of food neophobia in humans. **Appetite**, v. 19, n. 2, p. 105-20, Oct 1992. ISSN 0195-6663 (Print) 0195-6663 (Linking). Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/1489209> >.
- PREEDY, V. R. **Tomatoes and tomato products: nutritional, medicinal and therapeutic properties**. CRC Press, 2008. ISBN 1439843392.
- PRESCOTT, J. et al. Estimating a “consumer rejection threshold” for cork taint in white wine. **Food Quality and Preference**, v. 16, n. 4, p. 345-349, 2005. ISSN 0950-3293.
- PRIOR, R. L. et al. Multi-laboratory validation of a standard method for quantifying proanthocyanidins in cranberry powders. **J Sci Food Agric**, v. 90, n. 9, p. 1473-8, Jul 2010. ISSN 1097-0010 (Electronic) 0022-5142 (Linking). Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/20549799> >.
- PULIDO, R.; BRAVO, L.; SAURA-CALIXTO, F. Antioxidant activity of dietary polyphenols as determined by a modified ferric reducing/antioxidant power assay. **J Agric Food Chem**, v. 48, n. 8, p. 3396-402, Aug 2000. ISSN 0021-8561 (Print) 0021-8561 (Linking). Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/10956123> >.
- REMBERG, S. et al. Effects of preharvest factors on berry quality. . **Acta Hort. (ISHS)**, v. 1017, p. 8, 2014. Disponível em: < <http://sci-hub.cc/10.17660/actahortic.2014.1017.21> >.
- REYNOLDS, A.; HEUVEL, J. Influence of grapevine training systems on vine growth and fruit composition: a review. **American Journal of Enology and Viticulture**, v. 60, n. 3, p. 251-268, 2009. ISSN 0002-9254.

RINALDI, M. M. et al. Post-harvest conservation of *Passiflora setacea* DC. fruits submitted to different sanitizers and storage temperatures. **Brazilian Journal of Food Technology**, v. 20, 2017. ISSN 1981-6723.

ROCHA, M. **Compostos bioativos e atividade antioxidante (in vitro) de frutos do cerrado piauiense**. 2011. Dissertação. [Teresina]: Universidade Federal do Piauí, Programa de Pós-Graduação em Alimentos e Nutrição

RODRIGUEZ-AMAYA, D. **A Guide to Carotenoid Analysis in Food**. Washington, D.: 2001. ISBN 1-57881-072-8.

ROESLER, R. et al. Atividade antioxidante de frutas do cerrado. **Food Science and Technology**, v. 27, p. 53-60, 2007. ISSN 0101-2061. Disponível em: < http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0101-20612007000100010&nrm=iso >.

ROSALES, M. A. et al. The effect of environmental conditions on nutritional quality of cherry tomato fruits: evaluation of two experimental Mediterranean greenhouses. **J Sci Food Agric**, v. 91, n. 1, p. 152-62, Jan 15, 2011. ISSN 1097-0010 (Electronic) 0022-5142 (Linking). Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/20853276> >.

ROSELL, J. R.; SANZ, R. A review of methods and applications of the geometric characterization of tree crops in agricultural activities. **Computers and Electronics in Agriculture**, v. 81, p. 124-141, 2012. ISSN 0168-1699.

SALAZAR, A. H. **Avaliação de diferentes porta-enxertos na produção de maracujazeiro (*Passiflora edulis* Sims)**. Viçosa, MG., p.71. 2013

SANTOS, J. et al. Morphophysiological analysis of passion fruit plants from different propagation methods and planting spacing. **Revista Caatinga**, v. 29, n. 2, p. 305-312, 2016. ISSN 1983-2125.

SANTOS, K. C. et al. Sedative and anxiolytic effects of methanolic extract from the leaves of *Passiflora actinia*. **Brazilian Archives of Biology and Technology**, v. 49, n. 4, p. 565-573, 2006. ISSN 1516-8913.

SAXENA, M. et al. Phytochemistry of medicinal plants. **Journal of Pharmacognosy and Phytochemistry**, v. 1, n. 6, 2013. ISSN 2278-4136.

SCHLUETER, A.; JOHNSTON, C. Vitamin C: overview and update. **Journal of Evidence-Based Complementary & Alternative Medicine**, v. 16, n. 1, p. 49-57, 2011. ISSN 2156-5872.

SILVA, F.; EVANGELISTA, B.; MALAQUIAS, J. **Normal climatológica de 1974 a 2003 da estação principal da Embrapa Cerrados Planaltina, DF, Brazil.**: Embrapa Cerrados, 2014. ISBN ISSN 0103-4235. Disponível em: < <https://www.infoteca.cnptia.embrapa.br/bitstream/doc/999589/1/doc321.pdf> >.

SILVA, J. et al. Frutas nativas dos cerrados. **Brasília: Embrapa**, 1994.

SINGLETON, V. L.; ROSSI, J. A. Colorimetry of Total Phenolics with Phosphomolybdic-Phosphotungstic Acid Reagents. **American Journal of Enology and Viticulture**, v. 16, n. 3, p. 144-158, 1965-01-01 00:00:00 1965. Disponível em: < <http://www.ajevonline.org/content/ajev/16/3/144.full.pdf> >.

SIQUEIRA, E. M. et al. Brazilian savanna fruits contain higher bioactive compounds content and higher antioxidant activity relative to the conventional red delicious apple. **PLoS One**, v. 8, n. 8, p. e72826, 2013. ISSN 1932-6203 (Electronic) 1932-6203 (Linking). Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/23991156> >.

SIRO, I. et al. Functional food. Product development, marketing and consumer acceptance—A review. **Appetite**, v. 51, n. 3, p. 456-467, 2008. ISSN 0195-6663.

SIVAGAMI, G. et al. Role of hesperetin (a natural flavonoid) and its analogue on apoptosis in HT-29 human colon adenocarcinoma cell line—A comparative study. **Food and chemical toxicology**, v. 50, n. 3, p. 660-671, 2012. ISSN 0278-6915.

SMIRNOFF, N. L-ascorbic acid biosynthesis. **Vitamins & Hormones**, v. 61, p. 241-266, 2001. ISSN 0083-6729.

SOUZA, L. et al. Evidence for the involvement of the serotonergic 5-HT 1A receptors in the antidepressant-like effect caused by hesperidin in mice. **Progress in Neuro-Psychopharmacology and Biological Psychiatry**, v. 40, p. 103-109, 2013. ISSN 0278-5846.

SOZO, J. S. Perfis de metabólitos secundários e atividade antioxidante de frutos, sementes e calos cultivados in vitro DE *Passiflora setacea* E *Passiflora tenuifila* (Passifloraceae). 2014.

STONE, H.; SIDEL, J. L. **Sensory Evaluation Practices**. Redwood City: Tragon Corporation, 2004.

SZAKALY, Z. et al. The influence of lifestyle on health behavior and preference for functional foods. **Appetite**, v. 58, n. 1, p. 406-13, Feb 2012. ISSN 1095-8304 (Electronic) 0195-6663 (Linking). Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/22119479> >.

TAIZ, L.; ZEIGER, E. **Fisiologia vegetal**. 5. Rio de Janeiro Ed. Artmed., 2013.

TAN, Z. et al. Purified vitexin compound 1 suppresses tumor growth and induces cell apoptosis in a mouse model of human choriocarcinoma. **International Journal of Gynecological Cancer**, v. 22, n. 3, p. 360-366, 2012. ISSN 1048-891X.

TEIXEIRA, L. V. Análise sensorial na indústria de alimentos. **Revista do Instituto de Laticínios Cândido Tostes**, v. 64, n. 366, p. 12-21, 2009. ISSN 2238-6416.

THEODORATOU, E. et al. Dietary flavonoids and the risk of colorectal cancer. **Cancer Epidemiology and Prevention Biomarkers**, v. 16, n. 4, p. 684-693, 2007. ISSN 1055-9965.

TILAHUN, S. et al. Review on factors affecting the quality and antioxidant properties of tomatoes. **African Journal of Biotechnology**, v. 16, n. 32, p. 1678-1687, 2017. ISSN 1684-5315.

TIWARI, B. et al. Ascorbic acid degradation kinetics of sonicated orange juice during storage and comparison with thermally pasteurised juice. **LWT-Food Science and Technology**, v. 42, n. 3, p. 700-704, 2009. ISSN 0023-6438.

UGUSMAN, A. et al. Flavonoids of Piper sarmentosum and its cytoprotective effects against oxidative stress. **EXCLI journal**, v. 11, p. 705, 2012.

UNICAMP. **Tabela brasileira de composição de alimentos**. ALIMENTAÇÃO., N. N. D. E. E. P. E.: Campinas: NEPA- UNICAMP. 4 2011.

VAN KLEEF, E.; VAN TRIJP, H.; LUNING, P. Consumer research in the early stages of new product development: a critical review of methods and techniques. **Food quality and preference**, v. 16, n. 3, p. 181-201, 2005. ISSN 0950-3293.

VARELA, P.; ARES, G. Sensory profiling, the blurred line between sensory and consumer science. A review of novel methods for product characterization. **Food Research International**, v. 48, n. 2, p. 893-908, 2012. ISSN 0963-9969.

VERBEKE, W. Consumer acceptance of functional foods: socio-demographic, cognitive and attitudinal determinants. **Food Quality and Preference**, v. 16, p. 12, 2005.

VERZERA, A. et al. Leaf removal and wine composition of *Vitis vinifera* L. cv. Nero d'Avola: the volatile aroma constituents. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, v. 96, n. 1, p. 150-159, 2016. ISSN 1097-0010.

VIANA, M. L.; COSTA, A. M.; CELESTINO, S. M. C. Informações para a composição de tabela nutricional da polpa do maracujá BRS Pérola do Cerrado. **Embrapa Cerrados-Boletim de Pesquisa e Desenvolvimento (INFOTECA-E)**, 2016.

VIANNA-SILVA, T. et al. Qualidade do suco de maracujá-amarelo em diferentes épocas de colheita. **Ciência e tecnologia de alimentos** v. 28, n. 3, p. 5, 2008. ISSN 0101-2061.

VIDAL, L. et al. Sensory characterization of the astringency of commercial Uruguayan Tannat wines. **Food Research International**, 2017. ISSN 0963-9969.

VIEIRA, G. **Compostos fenólicos, atividade antioxidante e alcaloides em folhas e frutos (pericarpo, polpa e sementes) de *Passifloras* spp.** p.81. 2013

VILLA NOVA, N. et al. Estimativa de graus - dia acumulados acima de qualquer temperatura-base, em função das temperaturas máxima e mínima. **Cardeno de Ciências da Terra**, v. 30, 1972.

VISNAGRI, A. et al. Hesperidin, a flavanoglycone attenuates experimental diabetic neuropathy via modulation of cellular and biochemical marker to improve nerve functions. **Pharmaceutical biology**, v. 52, n. 7, p. 814-828, 2014. ISSN 1388-0209.

VOGT, T. Phenylpropanoid biosynthesis. **Molecular plant**, v. 3, n. 1, p. 2-20, 2010. ISSN 1674-2052.

WONDRACEK, D. et al. Composição de carotenoides em passifloras do cerrado. **Revista**

Brasileira Fruticultura, v. 33, n. 4, p. 6, 2011. Disponível em: <
<http://www.scielo.br/pdf/rbf/v33n4/v33n4a22.pdf>>.

XUE, D. et al. The role of hesperetin on osteogenesis of human mesenchymal stem cells and its function in bone regeneration. **Oncotarget**, v. 8, n. 13, p. 21031, 2017.

YANG, S. et al. The Novel p53 - Dependent Metastatic and Apoptotic Pathway Induced by Vitexin in Human Oral Cancer OC2 Cells. **Phytotherapy Research**, v. 27, n. 8, p. 1154-1161, 2013. ISSN 1099-1573.

YANG, Y. et al. Hesperetin: an inhibitor of the transforming growth factor- β (TGF- β) signaling pathway. **European journal of medicinal chemistry**, v. 58, p. 390-395, 2012. ISSN 0223-5234.

ZHOU, Y. et al. Vitexins, nature-derived lignan compounds, induce apoptosis and suppress tumor growth. **Clinical Cancer Research**, v. 15, n. 16, p. 5161-5169, 2009. ISSN 1078-0432.

CAPÍTULO 3 - RESULTADOS E DISCUSSÃO ARTIGO 1

Effect of training system and climate conditions on phytochemicals of

Passiflora setacea, a wild *Passiflora* from Brazilian savannah

Preharvest effects on bioactive compounds of *Passiflora setacea*

Mariana Veras Oliveira de Carvalho^{1*}, Lívia de Lacerda de Oliveira¹, Ana Maria Costa²

¹Postgraduate Program in Human Nutrition, College of Health Sciences, Campus Universitário Darcy Ribeiro, Universidade de Brasília, Brasília, DF, 70910900, Brazil

²Embrapa Cerrados, BR 020, Km18, Laboratory of Food Science, Planaltina, Federal District, 73310970, Brazil.

Mariana Veras Oliveira de Carvalho
E-mail: mariana.carvalho@ifb.edu.br

Lívia de Lacerda de Oliveira
E-mail: liviadelacerda@gmail.com

Ana Maria Costa
E-mail: ana-maria.costa@embrapa.br

***Corresponding Author:** e-mail: mariana.carvalho@ifb.edu.br

ABSTRACT

Passiflora setacea is a Brazilian savannah fruit known as a good source of phytochemicals. The phytochemical composition is influenced by environmental factors and management techniques such as training system. This study aimed to evaluate the influence of training system (espalier or trellis) and environmental factors (temperature, precipitation and sunlight exposure) on antioxidant capacity and bioactive composition of *P. setacea* pulp. Total phenolic compounds (TP), proanthocyanidins (PA), total flavonoids (TF), total carotenoids, vitamin C and total antioxidant activity were analyzed. Five flavonoids (orientin, isoorientin, vitexin, isovitexin and hesperetin) were determined by HPLC-DAD, using calibration curves. Espalier training system samples, in dry season, presented higher levels of carotenoids compared to trellis training system. Training system presented no effects on TP, PA, TF and antioxidant activity, whereas rainy season year 2 increased FRAP values, TF, orientin, isovitexin and hesperetin content, which could be associate to climate stressful condition leading to higher levels of these compounds.

KEYWORDS: Training system; *Passiflora setacea*; bioactive compounds, flavonoids.

Chemical compounds studied in this article:

Orientin (PubChem CID: 5281675); Isoorientin (PubChem CID: 114776); Vitexin (PubChem CID: 5280441); Isovitexin (PubChem CID: 162350); Hesperetin (PubChem CID: 72281); Procyanidin B2 (PubChem CID: 122738); 2,2-Diphenyl-1-picrylhydrazyl (PubChem CID: 74358); TPTZ; 2,4,6-Tris(2-pyridyl)-s-triazine (PubChem CID:77258); Ascorbic acid (PubChem CID: 54670067); Beta-carotene (PubChem CID: 5280489).

3.1. INTRODUCTION

Several epidemiologic studies suggest that consumption of fruits reduces the risk of chronic diseases, such as cardiovascular disease and cancer (Huang *et al.*, 2012). In particular, the intake of fruits grown in an arid climate and acid soils, such as the Brazilian savannah biome, has been consistently associated to health benefits. Savannah flora is one of the most abundant sources of phytochemicals in the world due to its biodiversity. According to Siqueira, Rosa, Fustinoni, Sant'Ana, and Arruda (2013), its rusticity in relation to abiotic factors such as soil acidity, excessive exposure to sunlight and frequent fire during the dry season, common in the Brazilian savannah, determined the selection of species with function of defense against oxidative processes and with high content of bioactive compounds such as phenolics, vitamin C and carotenoids.

Passiflora setacea D.C is a passion fruit native from Brazilian savannah known as *maracujá do cerrado* (savannah passion fruit) or *maracujá do sono* (sleep passion fruit), a popular name that is used due its association with sleep modulation (Bomtempo *et al.*, 2016). The *Passiflora setacea* variety BRS-PC was obtained by the genetic breeding program of Embrapa Cerrados, affiliated with the Brazilian Ministry of Agriculture, in order to enhance harvest productivity and fruits size (Embrapa Cerrados, 2015).

Duarte (2015) evaluated the immunomodulatory effects of *P. setacea* juice consumption by overweight volunteers enrolled in a controlled, randomized, cross, double-blind study and found that *P. setacea* juice consumption increased the phagocytosis of pathogens, related to greater effectiveness of the innate and acquired immune system against cellular damage. This protective action is typically attributed

to antioxidant components including flavonoids such as orientin, isoorientin, vitexin, isovitexin (Gomes *et al.*, 2016).

Although some authors have already reported the main flavonoids present in *Passifloras* (Gadioli *et al.*, 2016), the investigation of the influence of preharvest factors such as environmental, cultivation conditions and climate, on flavonoids and other bioactive compounds levels has been less explored.

The passion fruit plant, like a vine, needs a support system to provide an ideal distribution of the branches to a better productivity. The most frequent training systems used to produce passion fruit in Brazil are the horizontal trellis and the vertical espalier (Embrapa Cerrados, 2015). The sunlight exposure is distinct in these different types of training systems and, thus, the chemical composition of passion fruits may be affected, once this environmental factor can modulate the metabolic pathway between the phytochemical composition and photosynthetic process. Sunlight exposure and its effects in chemical composition was evaluated in grapes (Song *et al.*, 2015) and tomatos (Kläring e Krumbein, 2013), but according to our literature search, the changes in bioactive compounds related to training system in *P. setacea* have not yet been studied.

In this context, the present study aims to quantify *Passiflora setacea* bioactive compounds and antioxidant activity due to changes in training systems and seasonal climate conditions. In addition, a HPLC analysis allowed us to compare the effects of these factors on flavonoids contents of *P. setacea* pulp.

3.2. MATERIALS AND METHODS

3.2.1. Chemical reagents

Methanol HPLC grade, acetonitrile, Folin-Ciocalteu phenol reagent, gallic acid, DMAC (4-dimethylaminocinnamaldehyde), procyanidin B2 (HPLC, purity > 99%), 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazil (DPPH), 6-hydroxy-2,5,7,8-tetramethylchroman-2-carboxylic acid (trolox), 2,4,6-tris(2-pyridyl)-s-triazine (TPTZ), metaphosphoric acid (MPA), acetic acid, sulfuric acid (H₂SO₄), EDTA, dithiothreitol (DTT), trizma buffer (pH 9.0), ascorbic acid standard, monobasic sodium phosphate (NaH₂PO₄), EDTA, phosphoric acid (H₃PO₄) were purchased from Sigma Aldrich Inc. (St Louis, MO, EUA). Flavonoids standards orientin (purity ≥ 97%) isoorientin (≥ 95%), vitexin (≥ 95%), isovitexin (≥ 95.2%) and hesperetin (purity ≥ 98%) were also acquired from Sigma Aldrich (St Louis, MO, EUA). Ethanol, hydrochloric acid, acetone, anhydrous sodium sulfate, ether, tetrahydrofuran and trifluoroacetic were purchased from Vetec Quimica Fina Ltda (Duque de Caxias, Rio de Janeiro, Brazil) and sodium carbonate from Merck (Darmstadt, Germany). Samples were filtered in Millex nylon 0.45 µm filter, 13 mm, body in polyethylene non-sterile (Merck KGaA, Germain).

3.2.2. Plant materials

The *Passiflora setacea* variety BRS-PC fruits were harvested at full maturity, at Experimental Farm of Embrapa Cerrados, 15° 36'13.02 "S, 47° 43'17.34 (Federal District, Brazil Midwest).

The experiment was conducted in two training systems: vertical espalier or horizontal trellis, both with total number of 40 plants. Each treatment was repeated in five blocks and each block composed by eight plants. Fertilization, irrigation, pruning and disease control of both training system treatments were standardized.

To evaluate the seasonal influence, *P. setacea* pulp were analyzed for two years, with two consecutive fruiting seasons: dry seasons (September/ October 2013

and 2014) and rainy seasons (February/ March 2014 and 2015). Fruits were harvested in the five weeks of higher productivity of each season crop. Thus, the experimental design was factorial, with two training systems (espalier or trellis), two years (year 1 or year 2), two seasons (dry or rainy season), and five replications (five lines), a scheme 2 x 2 x 2 x 5, in triplicate. Eight treatments were obtained: Espalier dry season year 1 (ED1), Espalier dry season year 2 (ED2), Espalier rainy season year 1 (ER1), Espalier rainy season year 2 (ER2), Trellis dry season year 1 (TD1), Trellis dry season year 2 (TD2) and Trellis rainy season year 1 (TR1) and Trellis rainy season year 2 (TR2).

3.2.3. Chemical analysis

After each harvest, the fruits were sanitized, the pulp removed, packed separately in polyethylene bags (portions of 1 liter), closed under vacuum (vacuum sealer model 200B, Selovac, Brazil), frozen and stored at - 80 °C, until chemical analysis. Pulp moisture was measured by drying at 105 °C and at 70 °C under vacuum, according to standard procedures.

3.2.3.1. Total ascorbic acid

Total ascorbic acid was performed according to Campos *et al.* (2009). Dehydroascorbic acid (DHA) was quantified by subtracting the initial AA content (before DHA conversion) of the total AA content (after DHA conversion to AA). Samples were kept sheltered from light, at room temperature. Chromatographic analysis of total ascorbic acid was performed on a Shimadzu® HPLC system, equipped with a high-pressure pump model LC-10AT VP, an autosampler model SIL-10AF and UV visible diode array detector model SPD-M10A (Shimadzu®, Kyoto, Japan). A

Lichospher column 100 RP18, 250 mm 4 mm, 5 mm (Merck, Germany) was used with mobile phase consisting of 1 mM monobasic sodium phosphate (NaH_2PO_4) and 1 mM EDTA, pH adjusted to 3.0 with phosphoric acid (H_3PO_4), in isocratic elution at a flow rate of 1 mL/min. Detection was made at 245 nm and ascorbic acid was used as standard, with curve ranging from 0 to 100 $\mu\text{L}/\text{mL}$.

3.2.3.2. Total Carotenoids content

Total carotenoids content was determined according to Rodriguez-Amaya (2001), using the β -carotene absorption coefficient ($A^{1\%}$, 1cm = 2592) in petroleum ether, expressed in fresh weight (FW) basis.

3.2.3.3. Total phenolic compounds (TPC), proanthocyanidins (PA) and Total antioxidant activity (TAA)

The extracts of pulp were prepared according to Larrauri *et al.* (1997), with modifications, using 1.5 g of lyophilized pulp sample. This extract was used to the analyses of total phenolic compounds (TPC), proanthocyanidins and total antioxidant activity (TAA). TPC were determined by the Folin Ciocalteu colorimetric method, expressed in mg of Gallic acid equivalent in fresh mass (mg GAE/100 g FM), while the proanthocyanidins (PA) content was analyzed by the DMAC (4-dimethylaminocinnamaldehyde) method, performed according to Prior *et al.* (2010), expressed in proanthocyanidins B2 in fresh mass (mg PB2/100 g FM).

The TAA concentration was determined by the DPPH and FRAP (Ferric reducing antioxidant power) methods. The capacity to scavenge the DPPH radical was assessed using the method of Brand-Williams (1995). The radical scavenging activity was calculated based in EC_{50} , which is the amount of antioxidant required to reduce

the initial concentration of DPPH by 50%. DPPH results were expressed as trolox equivalent ($\mu\text{mol TE/g FM}$).

The FRAP assay was performed according to Pulido *et al.* (2000). The analytical standard Trolox was used to construct the calibration curve and the results were expressed as equivalents of Trolox per gram of *P. setacea* pulp ($\mu\text{mol TE/g FM}$).

3.2.3.4. Total Flavonoids analysis

The flavonoids from the *P. setacea* pulp were quantified by spectrophotometry (Shimadzu UV-1800), at 374 nm, according to Lees e Francis (1972) method. The content of total flavonoids was expressed as mg quercetin equivalents (CE) per 100g of pulp dry weight sample.

3.2.3.5. Flavonoids quantification

Hydroethanolic extract were prepared with two grams of lyophilized pulp and 10 mL of extractive solution (ethanol: water, 1: 1). The mixture was left at room temperature for 24 hours, out of the light. At the end of the extraction, the mixture was centrifuged at 4 °C and 4.000 rpm for 15 minutes and the supernatant was collected. The volume was completed to 10 mL in a volumetric flask, kept frozen and stored at -80 °C, until chromatography analysis. In the day of chromatograph analysis, an aliquot of the extract (1 mL) was added of 0.2 mL of methanol 50% with HCl (1.2 N) and TBHQ (0.4 g/ L) to get flavonoid aglycones. The solution was sonicated for 5 min and filtered into a vial using HV 0.45mm millex filter unit.

The flavonoids were identified and quantified using a Shimadzu® HPLC system, equipped with a high-pressure pump model LC-10AT VP, an autosampler

model SIL-10AF and UV visible diode array detector model SPD-M10A (Shimadzu®, Kyoto, Japan). The chromatographic separation of samples was achieved on a reversed-phase HPLC column Lichospher 100 RP18, 250 mm 4 mm, 5 mm (Merck, Germany). The column temperature was maintained at 40 °C and the injection volume was 15.0 µL. Elution solvents were solvent A (water/tetrahydrofuran/trifluoroacetic acid 99.79:0.2:0.01) and solvent B (acetonitrile HPLC 100%).

Orientin, isoorientin, vitexin and isovitexin were quantified using an isocratic run with 80% solvent A (water/tetrahydrofuran/trifluoroacetic acid 99.79:0.2:0.01) and 20% solvent B (acetonitrile HPLC 100%) in 0.5 mL/min flow rate for 25 minutes, injection volume 15.0 µL. Flavonoids were detected at 270 nm, 340 nm and 370 nm. Standard solutions (10, 20, 40, 60, 80 and 100 µg/mL) were prepared from stock solutions of each flavonoid (1000 µg/mL). Hesperetin was quantified using an isocratic elution using 70% solvent A and 30% solvent B, injection volume 15.0 µL, flow at 0.5 mL/min for 30 minutes. Hesperetin was detected at 270 nm. Hesperetin curve was prepared with 50, 100, 200, 400, 600, 800 and 1000 µg/mL.

Flavonoids were identified by comparing their UV–vis spectra and retention times with its standards. The results were expressed in mg/g dry weight (DW) of *P. setacea* pulp.

3.2.3.6. Climatic data

The climate conditions were analyzed according to the life cycle of *P. setacea* fruit, which comprehends three stages: anthesis, fruit development and fruit ripening, during about six weeks. Climatic data were kindly provided by Embrapa Cerrados, the nearest meteorological station, located in Experimental Farm of Embrapa Cerrados, 15 ° 35'30" S, 47 ° 42'30"W (Federal District, Brazil Midwest), with 1007 meters of

altitude. Data were collected using an automatic station with electronic sensors (Campbell Scientific®, Loughborough, UK).

From the hourly minimum (Tmin) and maximum (Tmax) temperatures (°C) recorded by the agriweather field, the average daily temperatures (Tday) were calculated. The degree of humidity (%), rainfall (mm) and sunlight exposure (h) were also recorded. Comparisons between season were performed using Student's T-test (independent samples) with 5% significance level.

3.2.3.7. Statistical analysis

Factorial variance analysis (ANOVA) allowed us to study the factorial effects of different training systems (espalier or trellis), year (year 1 or 2), season (dry or rainy seasons) and their interaction on chemical data of *P. setacea* BRS-PC pulp. When a significant difference ($p < 0.05$) was detected in some variable, Tukey's means tests were applied ($p < 0.05$). Principal Component Analysis (PCA) was carried out to obtain the relationship between climate variables, phytochemical composition and treatments.

3.3. RESULTS AND DISCUSSION

3.3.1. Effect of environmental factors on bioactive compounds

Cultivation technologies include the optimization of combined external stimuli such as climate control, plant breeding and training systems to obtain high yields and quality of fruits. In this study, the relationship between espalier or trellis training systems in *P. setacea* were evaluated. Season effect was also considered, with focus on climate conditions (Table 1). According to Silva *et al.* (2014), in Brazilian savannah,

the dry season is characterized by little or no precipitation and low humidity. In the present study, it was observed exactly these climate conditions, as shown in table 1. The influence of the training system and /or the season factor were evaluated for moisture, carotenoids, vitamin C, total phenolic, total flavonoids, proanthocyanidins content and antioxidant activity by DPPH and FRAP methods, presented in table 2.

Table 1. Climatic data of the dry and rainy seasons, of the two years analyzed - Main climatic station of Embrapa Cerrados, Planaltina (DF)

	Year	Dry season	Rainy season	p (t-test)
Maximum temperature (°C)	Year 1	29.0bA	28.4aB	0.039
	Year 2	31.5aA	27.7aB	p<0.001
p (t-test)		p<0.001	0.059	
Minimum temperature (°C)	Year 1	16.1aB	17.3aA	p<0.001
	Year 2	15.4aB	17.2aA	p<0.001
p (t-test)		0.062	0.368	
Average daily temperatures (°C)	Year 1	22.2bA	21.8aA	0.116
	Year 2	23.1aA	21.4aB	p<0.001
p (t-test)		0.008	0.61	
Humidity (%)	Year 1	55.9aB	75.6bA	p<0.001
	Year 2	42.8bB	80.9aA	p<0.001
p (t-test)		p<0.001	0.002	
Sunlight exposure (h)	Year 1	7.8bA	6.5aB	0.015
	Year 2	9.8aA	5.4bB	p<0.001
p (t-test)		p<0.001	0.048	
Rainfall (mm)	Year 1	54.0aB	173.4aA	0.024
	Year 2	6.4bB	238.1aA	p<0.001
p (t-test)		p<0.001	0.294	

Means in the same line with capital letters are not significantly different ($p < 0.05$). In columns, means with the same small letters are not significantly different ($p < 0.05$), according to Student's t-test.

Table 2. Chemical composition and antioxidant activity and *Passiflora setacea* pulp cultivated in espalier or trellis training systems, in dry or rainy seasons expressed in fresh mass (FM)

	Training system	Year 1 dry season	Year 1 rainy season	Year 2 dry season	Year 2 rainy season	Mean \pm SD	Training system (TS)	Season (S)	Year (Y)	TS x S
Moisture (%)	Espalier	87.2 aA	87.6 aA	86.3 aA	86.2 aA	86.5 \pm 1.5	ns	ns	ns	ns
	Trellis	86.1 aA	86.5 aA	86.3 aA	85.8 aA		p = 0.0675	p = 0.185	p = 0.335	p = 0.524
Carotenoids (μg/g)FM	Espalier	1.4 bB	1.3 aB	6.6 aA	2.4 aB	2.6 \pm 1.8	*	*	ns	*
	Trellis	3.3 aA	1.3 aB	2.7 bAB	1.9 aAB		p = 0.038	p < 0.001	p = 0.249	p < 0.001
Vitamin C (mg/100 g) FM	Espalier	17.3 aA	13.6 aB	16.0 aAB	13.6 aB	13.7 \pm 2.9	*	*	*	*
	Trellis	11.6 bB	15.3 aA	12.6 bAB	10.1 bB		p < 0.001	p = 0.018	p = 0.039	p = 0.027
Total Phenolic (TP) (mg GAE/100 g) FM	Espalier	74.8 aA	85.5 aA	63.4 aA	95.0 aA	78.5 \pm 21.2	ns	ns	ns	ns
	Trellis	76.3 aA	69.5 aA	77.3 aA	86.0 aA		p = 0.719	p = 0.191	p = 0.331	p = 0.420
Total Flavonoids (mg QE/100 g) FM	Espalier	0.92 aA	0.89 aA	0.96 aA	1.52 bA	1.30 \pm 0.96	*	*	*	*
	Trellis	0.63 aB	0.96 aB	1.54 aB	3.02 aA		p = 0.047	p = 0.014	p = 0.001	p = 0.024
Proanthocyanidins (PA) (mg/100 g) FM	Espalier	29.8 aAB	57.0 aA	13.2 bB	29.8 bAB	35.2 \pm 23.6	ns	ns	ns	*
	Trellis	22.4 aA	30.3 bA	43.3 aA	55.4 aA		p = 0.427	p = 0.932	p = 0.373	p = 0.001
DPPH (μMol Trolox/g) FM	Espalier	51.7aA	43.2aA	38.8aA	45.1 aA	47.1 \pm 15.6	ns	ns	ns	ns
	Trellis	64.3aA	47.8aA	49.4aA	36.7 aA		p = 0.308	p = 0.715	p = 0.735	p = 0.398
FRAP (mMol TE/g) FM	Espalier	71.7 aB	40.7 aB	79.9 aB	122.4 aA	82.4 \pm 44.5	ns	*	ns	ns
	Trellis	70.6 aB	47.2 aB	78.2 aB	149.2 aA		p = 0.435	p < 0.001	p = 0.291	p = 0.713

Means in the same line with capital letters are not significantly different ($P < 0.05$), according to ANOVA. In columns, means with the same small letters are not significantly different ($p < 0.05$), according to Tukey test.

Factorial ANOVA p value: ns: not significant; * significant different ($p < 0.05$).

The moisture content ranged between 85.4% and 87,7%, similar to found by Bomtempo *et al.* (2016) (85.6- 87.9%) in *P. setacea* pulp. Training system and season factors had no significant effect on *P. setacea*'s moisture, similar to found by Mellisho *et al.* (2012), who reported no change in fruit moisture in pomegranate (*Punica granatum* L.) fruit cropped in three irrigation treatments.

Considering factorial scheme analysis, training system influenced total carotenoids and total vitamin C as isolated factors, as shown in table 2. Total carotenoids content ranged from 1.3 to 6.6 µg/g (Table 2). It was found a significant difference between espalier and trellis training system only in dry seasons, while in the rainy seasons training system was not a significant factor. The higher carotenoids values found in espalier samples (in dry season year 2) can be related to higher sunlight exposure in this season, similar to Gautier *et al.* (2009), who found higher total carotenoids levels in tomatoes kept under light than shaded ones. The authors affirm that carotene content of tomato fruit depends on the light intercepted by the fruit itself.

Considering season effect, the highest values of carotenoids were found in espalier dry season year 2 (6.6 µg/g), which was significantly higher than espalier rainy season year 2 (2.4 µg/g). In acerola fruits, carotenoids ranged between 11.8 and 30.9 µg/g, varying significantly between dry and rainy seasons, with higher carotenoids values in the rainy season (Lima *et al.*, 2005). This trend was contrary to the observed in the present study, whose highest values were found in dry season (trellis year 1 and espalier year 2), but the growing temperature may be different between the studies, once the temperature influence the carotenoids biosynthesis (Petruzza *et al.*, 2013).

Vitamin C, as the sum of ascorbic or dehydroascorbic acid in food, varied between 10.1 and 17.3 mg/100g (Table 2). When compared with other *Passifloras*, the *P. setacea* pulp presented higher vitamin C content than *Passiflora quadrangularis* (7

mg/100g), similar to *Passiflora maliformis* (15 mg/100g) (Ramaiya *et al.*, 2013). Considering the training system effect, it was found a higher vitamin C content in espalier training system in three of the four evaluated periods. According to Gautier *et al.* (2009), in cherry tomato fruit, shading had a strong impact on ascorbic acid content, reducing by up to 50%, which can explain higher vitamin C content in espalier, the most sun exposed training system compared to trellis training system.

In addition, in espalier year 1, vitamin C levels were higher in dry season. Higher vitamin C on dry season may be related to sunlight, higher in these period, as shown in table 1. Precipitation was negatively related to ascorbic acid content in blueberries (Remberg *et al.*, 2014), similar to the present study.

Total phenolic content (TPC) and proanthocyanidins (PA) are associated to strong antioxidant activity (Huang *et al.*, 2012). An increase in TPC (Table 2) was expected for espalier system as a result of the increased biosynthesis of flavonoid compounds in response to UV radiation exposure of the fruit (Gregan *et al.*, 2012). Nevertheless, the factor training system had no significant effect on TPC of *P. setacea* pulp, since there was no difference between espalier and trellis. This result is contrary to the findings of Song *et al.* (2015) who observed that TPC was higher in wines from grapes more exposed to sunlight. These distinct findings may be related to the type of shading used, since in the present study the used natural shading produced by leaf area in trellis system, while the authors used polycarbonate and acrylic sheet to block or transmit UV radiation (Song *et al.* (2015).

With respect to the season effect, no significant difference was observed in TPC, ranging from 63.4 (espalier dry season year 2) to 95.0 mg/100g (espalier rainy season year 2), similar to reported by Mellisho *et al.* (2012) in analysis of pomegranate (*Punica granatum* L.) fruit. Lima *et al.* (2005) evaluated the effects of weather

conditions on TPC of mature acerola fruits and found significant differences between dry and rainy season samples in half of genotypes analyzed, with higher TPC values in dry seasons, showing that moderate water stress can induce a production of phenols in shikimate pathway.

The TPC of *P. setacea* pulp (78.5 mg GAE/100g FM) was similar to the values found by Gadioli (2017) in *P. setacea* pulp (76.8 mg GAE/100g FM) and Contreras-Calderón *et al.* (2011) in *Passiflora quadrangulares* pulp (70.7 mg GAE/100g FM).

Condensed tannins, also known as proanthocyanidins (PA), are oligomeric and polymeric flavan-3-ols. Three common flavan-3-ols that differ in their hydroxylation patterns, are found in PAs, being the most known (epi)catechin and procyanidins. PA play an essential role in defining the sensory properties of fresh fruit and pulps. They are responsible for the tart taste and changes in the color of fruit and fruit juice (Zoratti *et al.*, 2014). In the present study, *P. setacea* pulp presented an average of proanthocyanidins (PA) contents of 35.2 mg PB2/ 100g, higher than found previously by Gadioli (2017) (17.4 mg/100g) and higher than red-fleshed apples (29.8mg PB2/100g FM) (Wang *et al.*, 2014).

According to Zoratti *et al.* (2014), the light exposure is an important environmental factor influencing PA biosynthesis in plants. Regarding the influence of the training system factor, leaves and stems decrease light exposure of passion fruits in trellis system. Thus, it was expected lower expression of PA in fruits of these training system since flavonoid's biosynthesis is light-induced, in accordance with its role as being UV-protectant (Zoratti *et al.* (2014). Indeed, it was observed lowest value in the trellis rainy season year 1 (30.3 mg PB2/100g), which differed significantly from espalier in this season (57.0 mg PB2/100g). On the other hand, in the dry and rainy seasons of year 2, it was observed the opposite (higher PA in trellis system). Downey

et al. (2006) discuss contradictory findings considering light effect on flavonoids and tannins expression.

Higher contents of PA in dry season period was expected considering that bioactive compounds are produced in response to water stress (Zarrouk *et al.*, 2012). However, there was no difference in PA content between dry or rainy samples, contrary to the observed in grape berries grown in China (Xu *et al.*, 2011), and grapevines (*Vitis vinifera* L.) (Zarrouk *et al.*, 2012), with higher condensed tannins in water stressed plants.

The total flavonoids concentration ranged between 0.63 and 3.02 mg QE/100 g in *P. setacea* pulp samples. Considering training system effect, a difference between espalier and trellis samples was expected, since the biosynthesis of flavonoids is the regulated in response to UV radiation exposure (Gregan *et al.*, 2012), as observed in the present study, with higher total flavonoids contents in espalier training system, except to rainy season year 2. These results might be in part explained by the species-specific plant response, including alterations in plant morphology, physiological adaptations, and an effect on photosynthetic efficiency on specific shadowing situations.

Concerning the season effect, it was observed higher total flavonoids content in espalier rainy season year 2 (3.02 mg QE/100g) (Table 2). In rainy season year 2, there was a greater humidity and lower exposure to sunlight, which could influence total flavonoids. Pandey *et al.* (2016) also observed higher concentration of total flavonoids and flavonoid glycosides in rainy samples of *Tephrosia purpurea* (Linn.), a medicinal plant from Ayurvedic system of medicine.

3.3.2. Variation in antioxidant activity

Antioxidant activity describes the ability to donate an electron to a rampaging free radical and neutralize it, thus reducing its capacity to damage biological systems by scavenge free radicals, unstable and highly reactive molecules derived from normal metabolic processes, influenced by genetics and environmental differences that modulate antioxidant defense. Oxidative stress is the result of the unfavorable balance between free radical generation and antioxidant defenses (Huang *et al.*, 2012) . Plants are natural sources of antioxidant compounds. However, it is important to consider that the protective effect of antioxidants can be dose-dependent, since the antioxidant contents, such as polyphenolics and vitamin C, can vary due to many factors, as products of secondary metabolism.

The ability of the fruit extract to act as free radical (DPPH radical) stabilizer was tested by measuring the decrease of their absorbance at 517 nm after the addition of fruit extract and by comparing it with the absorbance decay produced by the addition of a known amount of Trolox, a water-soluble vitamin E analogue, under the same conditions. The EC₅₀ value, denoting the effective concentration of sample required to scavenge 50% of DPPH free radicals was assessed (Huang *et al.*, 2012).

The EC₅₀ values of *P. setacea* pulp varied from 36.7 µmol Trolox/ g FM (trellis rainy season year 2) to 64.3 µmol Trolox/ g pulp FM (trellis dry season year 1) (Table 2), similar to *Passiflora mollissima* L. (70 µmol Trolox/g FM) (Vasco *et al.*, 2008). Thus, the antioxidant activity of *P. setacea* can be considered high (EC₅₀ mean 47.2 µmol Trolox/g FM), since lower EC₅₀ values indicate greater effectiveness of the antioxidant.

Considering training system effect, in the present study there was no significant difference in values of EC₅₀ between treatments. Polyphenolic compounds are the main phytochemicals responsible for the antioxidant activity of fruits and vegetables. Thus, the absence of a significant difference between the total

polyphenolic compounds in the *P. setacea* pulps could explain the homogeneity in the antioxidant activity by DPPH method.

The results of FRAP method, with mean of 82.4 $\mu\text{Mol TE/g FM}$ (Table 2), suggest a higher antioxidant activity of *P. setacea* pulp in comparison with other passifloras (11 $\mu\text{mol TE/g FM}$ in *Passiflora quadrangularis*) (Contreras-Calderón *et al.*, 2011).

With regards to season effect, in this study, the higher FRAP values were found in rainy season year two (Table 2), for both training systems, characterized by lowers maximum temperatures compared to the maximum temperatures of dry season (Table 1). Differently, the FRAP antioxidant activity was significantly enhanced by the temperature increase during fruit development in experiments with Glen Ample Raspberry (*Rubus idaeus L.*) (Remberg *et al.*, 2014). However, in rainy season year 2, the excess of rainfall and low sunlight exposure (table 1) could be a stressful situation that may have stimulated the production of molecules with ability to reducing ferric radicals.

3.3.3. Variation in Flavonoids quantification

Due to the inability to move, plants have developed mechanisms to cope with adverse environmental conditions. Flavonoids, as secondary metabolites, are important group of phenolic material in passion fruits and include several classes (Gomes *et al.*, 2016). Because of their diverse chemical structure and variety, flavonoids represent these chemical interface between a plant and its surrounding environment and whose synthesis is often affected by stress conditions, triggering the biosynthetic pathways and the expression of proteins involved in flavonoid accumulation and transportation (Petruzza *et al.*, 2013)

The flavonoid contents were quantified in *P. setacea* pulps considering two training systems and different harvest seasons by HPLC-DAD. Five flavonoids were investigated in this study. Isoorientin, orientin, vitexin, and isovitexin, the main flavonoid C-glycosides described for the genus *Passiflora* (Gomes *et al.*, 2016). We also quantified hesperetin, so-called citrus flavonoid, the major flavanone glycoside present in citrus fruits (Bhagwat *et al.*, 2011). Orientin (luteolin-8-C-glucoside) and isoorientin (luteolin-6-C-glucoside) are isomers with empirical formulae $C_{21}H_{20}O_{11}$, and vitexin (apigenin-8-C-glucoside), and isovitexin (apigenin-6-C-glucoside) are isomers with empirical formulae $C_{21}H_{20}O_{10}$. Their structures vary only in the position of attachment of the glucose group in each pair (Ku *et al.*, 2014). Hesperetin (3',5,7-trihydroxy-4-methoxyflavanone) is a metabolite of hesperidin (hesperetin-7-O-rutinoside), which belongs to the flavanone subgroup and is found mainly in citrus fruits (Bhagwat *et al.*, 2011).

Wosch *et al.* (2017) identified isoorientin and isovitexin in *P. setacea* leaves. Orientin and isoorientin were the predominant flavonoids in two commercial açai species (*Euterpe oleracea* and *Euterpe precatoria*) (Dias *et al.*, 2013).

P. setacea chromatograms show orientin, isoorientin, vitexin, and isovitexin (Figure 1), in the same order as those obtained by Luengas-Caicedo, Braga, Brandão, and Oliveira (2007) in extracts of from *Crecopia. galziovii* leaves using HPLC-DAD and identified peaks corresponding to orientin (RT 9.42 min), isoorientin (RT 10.44 min), vitexin (RT 12.58 min), isovitexin (RT 13.91 min), with retention time near to the found in this study (Table 3). Our results seem to confirm these previous findings but a fine HPLC and LC-MS/MS characterization is required to better understand the influence of developmental factors on the expression and accumulation of specific phenolic and antioxidant compounds.

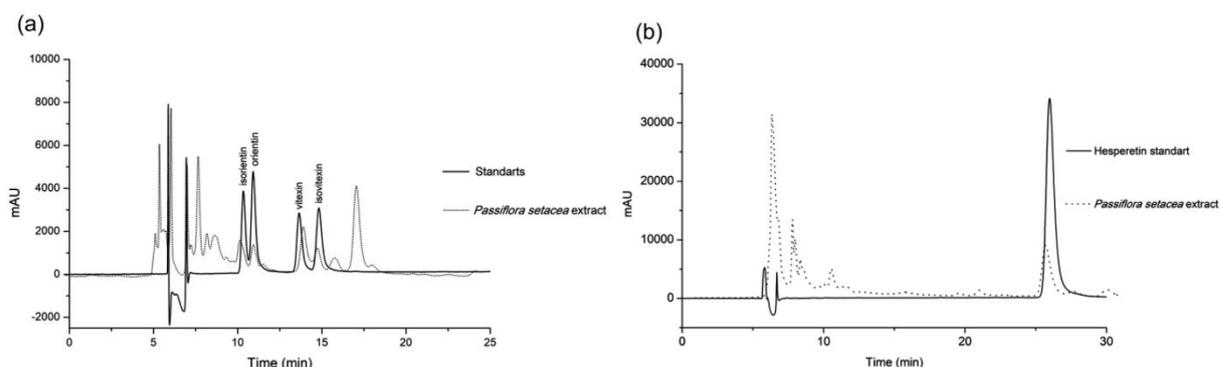


Figure 1. (a) HPLC overlay chromatogram of orientin, isoorientin, vitexin, isovitexin standards and *Passiflora setacea* pulp extract. (b) HPLC overlay chromatogram of hesperetin standard and *Passiflora setacea* pulp extract.

Table 3. Chromatographic data of phenolic standards used in quantification of Flavonoids in *P. setacea* pulp

Compound	Calibration equation	Coefficient R ²	Retention time	UV (nm)
Isoorientin	$y = 5914.5x - 2090.6$	0.9999	10.19	212, 349
Orientin	$y = 8145.8x - 7045.7$	0.9999	10.83	269, 349
Isovitexin	$y = 7374.4x - 10033$	0.9995	13.66	268, 338
Vitexin	$y = 5620.8x - 4869.1$	0.9996	14.69	269 337
Hesperetin	$y = 30549x - 30324$	0.9929	26.30	282

Maximum UV-band indicated in bold.

As shown in table 4, flavonoids of *P. setacea* nectars differed throughout the year of crop and harvest season, with higher concentration in rainy season year 2, which indicates climate effect in secondary metabolism and flavonoids synthesis. The training system, as isolated factor, had no influence on the synthesis of the flavonoids, since there was no significant difference between trellis and espalier samples for none of the five evaluated flavonoids, as opposed to Xu *et al.* (2011), who suggested that shading decreases the concentration of flavonoids in grape berries.

In general, the synthesis of flavonoids and other phenolic compounds are related to the increased temperature and UV radiation (Mierziak *et al.*, 2014). Light increases the rate of biosynthesis of phenolics in plants by increasing the activities of enzymes, especially phenylalanine ammonia-lyase (PAL), which plays an important role in converting phenylalanine (formed from shikimic acid pathway) into coumaric acid, which is the initial precursor molecules involved in the synthesis of phenolic components in plants (flavonoids and hydroxycinnamates). Besides, flavonoids may perform functional role in plant cold acclimation and freezing tolerance, increasing its synthesis (Petruzza *et al.*, 2013).

In the present study, the season had effect on orientin, isoorientin, isovitexin and hesperetin content (Table 4). *Passiflora setacea* pulp presented in average 1.05 mg/g of orientin, higher to found by Gomes *et al.* (2016) in dried and powdered leaves of *P. setacea* (0.48 mg/g DW) and in *P. edulis* f. *edulis* (0.37mg/g DW). Comparing with açai (*E. oleracea*) juice (0.35- 0.55 mg /g DW), *P. setacea* pulp presented higher content of orientin, being a good source of this flavonoid (Dias *et al.*, 2013).

The concentration of orientin in *P. setacea* pulp ranged between 0.63 and 1.95 mg/g DW (Table 4). The highest concentration was presented in TR2, opposite to expected since dry season is one of the most significant abiotic stress that affect plant growth and development. Water deficit usually accompanied by high temperatures and solar radiation often causes oxidative stress and, in response to it, there is an increase in flavonoids and phenolic acids synthesis in plant tissues, enhancing antioxidant metabolism (Xu *et al.*, 2011).

The isoorientin content varied with greater intensity in trellis system, with higher concentration in TD2 (trellis dry season year 2 - 1.95mg/g DW). Dry season year 2, in this study, presented long drought and high average temperature, which

would favor isoorientin production in fruit. The mean concentration in *P. setacea* pulp (1.05mg/g DW) was higher than found in *P. edulis* f. *flavicarpa* (0.58 mg/g DW) and *P. edulis* f. *edulis* (0.46 mg/g DW) (Gomes *et al.*, 2016).

Table 4. C-glycosylflavonoids and hesperetin content in *Passiflora setacea* pulp (dry weight)

	Orientin	Isoorientin	Vitexin	Isovitexin	Hesperetin
	(mg/g) DW	(mg/g) DW	(mg/g) DW	(mg/g) DW	(mg/g) DW
ED1	0.87B	0.80AB	0.27 A	1.45B	0.57 B
ED2	0.99B	0.71AB	1.02 A	0.85BC	1.12 B
ER1	0.87B	1.23AB	1.35 A	0.36C	0.63 B
ER2	1.07B	0.99AB	0.84 A	1,13B	2.61 A
TD 1	0.63B	0.67B	0.11 A	0.22C	0.50 B
TD2	0.89B	1.95A	1.50 A	1.36B	0.89 B
TR1	1.12B	0.93AB	1.00 A	0.32C	0.85 B
TR2	1.95A	1.14AB	0.37 A	2.06A	2.77 A
Mean	1.05 ± 0.39	1.05 ± 0.40	0.81 ±	0.97 ± 0.35	1.24 ± 0.53
Tr System	ns (p=0.102)	ns (p=0.240)	ns (p=0.709)	ns (p=0.679)	ns (p=0.960)
Season	* (p<0.001)	ns (p=0.243)	ns (p=0.093)	* (p<0.001)	* (p<0.001)
Year	* (p = 0.005)	ns (p=0.150)	*nd (p=0.447)	* (p<0.001)	* (p<0.001)
Tr System	*	*	ns	*	ns
x Season	(p=0.010)	(p=0.045)	(p=0.746)	(p<0.001)	(p=0.911)

In each column, different letters mean significant differences ($p < 0.05$), according to Tukey test.

Factorial ANOVA p value: ns: not significant; * significant difference ($p < 0.05$).

ED1, Espalier dry season year 1; ED2, Espalier dry season year 2 ; ER1, Espalier rainy season year 1; ER2; Espalier rainy season year 2; TD1 Trellis dry season year 1; TD2, Trellis dry season year 2 ; TR1 Trellis rainy season year 1; TR2,Trellis rainy season year 2.

The concentration of vitexin in *P. setacea* pulp was not influenced by training system, year or season either. The vitexin content in *P. setacea* ranged from 0.27 to 1.50 mg/g dry weight (Table 4). The mean value (0.81 mg/g DW) is slightly lower than previous studies (0.97 mg/g DW) reported by Gomes *et al.* (2016) and higher than that found in açai pulp (0.62 mg/g DW) (Dias *et al.*, 2013).

Isovitexin presented higher values in TR2 (2.06 mg/g DW) and lowers in rainy season year 1, both in trellis (TR1 0.32 mg/g DW) and espalier (ER1 0.36mg/g DW) (Table 4). The mean of isovitexin concentration observed in the present study is lower than the found previously in leaves from *P. setacea* (3.30mg/g DW), but similar to the found in *Passiflora quadrangularis* (2.04 mg/g DW) and higher than the observed in *Passiflora alata* (1.49 mg/g DW) and *P. edulis* f. *edulis* (1.26 mg/g DW) (Gomes *et al.*, 2016).

Hesperetin (mean 1.24 mg g⁻¹ DW or 0.14 mg g⁻¹ FW) (Table 4) was the most abundant identified flavonoid in *P. setacea* pulp. Hesperetin is common in citrus fruits. Comparing to USDA Database for the Flavonoid Content of Selected Foods, *P. setacea* pulp presented hesperetin content (0.14 mg g⁻¹ FM) similar to raw lemon juice (0.14 mg/g FM), higher than raw orange juice (0.11 mg/g FM) and lower than tangerine juice (0.17 mg/g FM) (Bhagwat *et al.*, 2011). In relation to hesperetin, higher values were found in year 2, in both espalier (ER2- 2.62 mg/g DW), and trellis (TR2- 2.77 mg/g DW), training systems. In rainy season year 2, we observed greater humidity and lower exposure to sunlight, which favored hesperetin accumulation. The high humidity, typical of rainy season, may increase the risk of pathogenesis through fungal or bacterial infection, which may induce flavonoid accumulation (Xu *et al.*, 2011).

In the present study, it was observed higher concentrations of orientin, isovitexin and hesperetin in the rainy season year 2, but not in year 1. According to Xu

et al. (2011), variations in different growing seasons can occur even when the same cultivar is grown in the same crop for two consecutive years. The concentration of flavonoids, proanthocyanidin and other compounds naturally fluctuate in the fruit (Downey *et al.*, 2006). These variances may be related to the seasonal difference of climatic conditions. Thus, manipulating a single microclimate factor, such as the number of days with temperatures above 30 °C, would help to better understand its effects on flavonoids biosynthesis.

In plants, the compounds isoorientin, isovitexin, vitexin are involved in the protection against *Fusarium oxysporum*, *Fusarium culmorum* (Mierziak *et al.*, 2014). *In vitro*, these compounds also present biological properties as such as neuroprotective (Machado *et al.*, 2016), cytoprotective and anti-inflammatory properties against oxidative stress (Ku *et al.*, 2014). The content of these flavonoid compounds in the *P. setacea* pulp could be related to their biological properties.

Hesperetin presents anti-inflammatory (Chang *et al.*, 2016), anticancer (Yang *et al.*, 2012) in *in vitro* assays. Considering the high concentration of hesperetin found in the present study, investigations of its biological activity in humans can help us to highlight *Passiflora setacea* as a functional food.

3.3.4. Principal component analysis

Principal component analysis (PCA) is a very useful method to integrate different groups of variables in the same observation map. PCA was applied to bring together the climate variables (Minimum temperature, maximum temperature, medium temperature, degree of humidity % (UR), rainfall (mm) and sunlight exposure(h)) and phytochemicals data (Total phenolics, total flavonoids, proanthocyanidins, DPPH and

FRAP antioxidant activity, Total ascorbic acid; Carotenoids, total carotenoids content, orientin, isoorientin, vitexin, isovitexin and hesperetin).

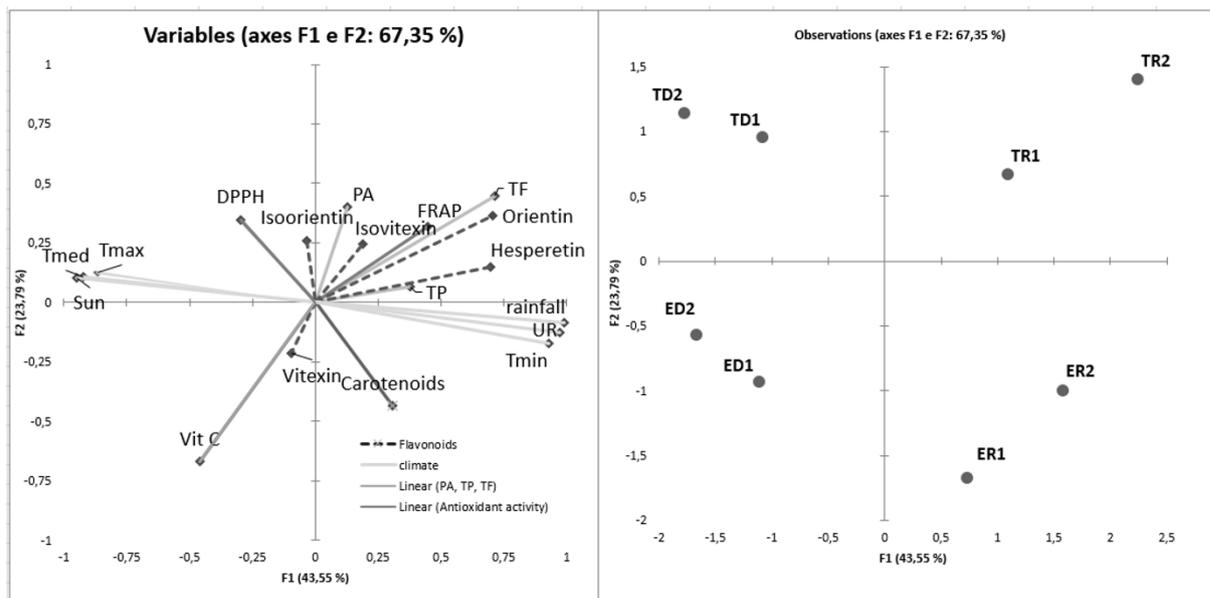


Figure 2. PCA Map of Phytochemical content of *Passiflora setacea* pulp. Percentage in parenthesis represents the variation of each component.

TP, Total phenolics; TF, total flavonoids; PA, proanthocyanidins; DPPH -2,2-Diphenyl-1-picrylhydrazyl (DPPH) radical-scavenging activity; FRAP, Ferric reducing antioxidant power; Vit C, Total ascorbic acid; Carotenoids, total Carotenoids content.

Minimum temperature (Tmin), maximum temperature (Tmax), medium temperature (Tmed), degree of humidity % (UR), rainfall (mm) and sunlight exposure h (Sun)

ED1, Espalier dry season year 1; ED2, Espalier dry season year 2; ER1, Espalier rainy season year 1; ER2, Espalier rainy season year 2; TD1 Trellis dry season year 1; TD2, Trellis dry season year 2; TR1 Trellis rainy season year 1; TR2, Trellis rainy season year 2.

In PCA map, (Figure 2), it is possible to identify trends. The first two dimensions accounted for 67.3% of total variance. First dimension explained the high percentage of total variance (43.5%) and separated samples in two groups according to the season: dry (TD1, TD2, ED1 and ED2) on the left and rainy season samples (ER1, ER2, TR1, TR2) on the right. The dimension 2 explains 23.8% and separated the samples in trellis and espalier groups.

Total flavonoids, orientin, isovitexin, hesperetin, proanthocyanidins and FRAP (TAA) were positively connected to first dimension. The less distance between Trellis Rainy season samples (TR1 and TR2) and phytochemical variables represents more

degree of association of trellis rainy season samples with those variables whereas the greater distance between trellis rainy samples (TR1 and TR2) and espalier dry samples (ED1 and ED2) represents some difference between these samples.

3.4. CONCLUSION

The knowledge of the effects of environmental factors on the chemical properties of *P. setacea* pulp will contribute to the characterization and settlement of this natural product as a functional food and it could be important for practical application of *P. setacea* in the pharmaceutical and food industries.

In conclusion, significant differences for carotenoids and vitamin C between espalier and trellis training system were found, with highest carotenoids values in espalier samples, which could be related to fruit sunlight exposure. However, training system had no significant effects on total polyphenolics, condensed tannins and total flavonoids contents, DPPH and FRAP antioxidant activity. Thus, with regards to phytochemical quality, the training system can be used by the producer according to its own convenience.

Considering season effect, the highest values there were differences in FRAP antioxidant activity, total flavonoids, orientin, isovitexin and hesperetin with higher concentrations in rainy season year 2, which could be associated to greater humidity and lowest exposure to sunlight as a stressful condition leading to higher expression of these compounds.

A series of studies associated consumption of fruits and vegetables with health benefits, relating them to antioxidant capacity and ability to prevent host of diseases. From the view of literature evidence, it is suggested that *P. setacea* pulp should be consumed naturally for healthy life as a good source of antioxidant components.

Acknowledgements

To Embrapa Cerrados, IFB and CNPq for the financial support

Compliance with ethics requirements

This article does not contain any studies with human or animal subjects.

Conflict of interest statement

We declare no Conflicts of interest in this research.

3.5. REFERENCES

- Bhagwat, S., Haytowitz, D. B., & Holden, J. M. (2011). USDA database for the flavonoid content of selected foods, Release 3.1. *Beltsville: US Department of Agriculture*, 03-01
- Bomtempo, L., Costa, A. M., Lima, H., Engeseth, N., & Gloria, M. (2016). Bioactive amines in Passiflora are affected by species and fruit development. *Food Res Int*, 89(1), 5. <http://dx.doi.org/10.1016/j.foodres.2016.09.028>
- Brand-Williams, W. C., M.E.; Berset, C. (1995). Use of a free radical method to evaluate antioxidant activity. *Lebensmittel-Wissenschaft und-Technologie* 28, 28(1), 6
- Campos, F., Chaves, J., de Azeredo, R., Oliveira, D., & Pinheiro Sant'Ana, H. (2009). Handling Practices to Control Ascorbic Acid and b-Carotene Losses in Collards (Brassica oleracea). *Food Sci Tech Int*, 15(5), 7.10.1177/1082013209350346
- Chang, Y., Seo, J., Song, E., Choi, H., Shim, E., Lee, O., & Hwang, J. (2016). Bioconverted Jeju Hallabong tangor (Citrus kiyomix ponkan) peel extracts by cytolase enhance antioxidant and anti-inflammatory capacity in RAW 264.7 cells. *Nutrition research and practice*, 10(2), 131-138
- Contreras-Calderón, J., Calderón-Jaimes, L., Guerra-Hernández, E., & García-Villanova, B. (2011). Antioxidant capacity, phenolic content and vitamin C in pulp, peel and seed from 24 exotic fruits from Colombia. *Food Res Int*, 44(7), 2047-2053
- Dias, A. L., Rozet, E., Larondelle, Y., Hubert, P., Rogez, H., & Quetin-Leclercq, J. (2013). Development and validation of an UHPLC-LTQ-Orbitrap MS method for non-anthocyanin flavonoids quantification in Euterpe oleracea juice. *Analytical and bioanalytical chemistry*, 405(28), 9235-9249
- Downey, M., Dokoozlian, N., & Krstic, M. (2006). Cultural practice and environmental impacts on the flavonoid composition of grapes and wine: a review of recent research. *American Journal of Enology and Viticulture*, 57(3), 257-268
- Duarte, I. (2015). INFLUÊNCIA DO CONSUMO AGUDO DO SUCO DE PASSIFLORA SETACEA SOBRE A CAPACIDADE FAGOCITÁRIA, PRODUÇÃO DE RADICAIS LIVRES E EXPRESSÃO DE CORPÚSCULOS LIPÍDICOS POR

- MONÓCITOS DE INDIVÍDUOS COM SOBREPESO. In U. d. Brasília (Ed.)).
Dissertação de mestrado em Nutrição Humana/ Faculdade de Ciências da Saúde
- Embrapa Cerrados. (2015). Cultivar de maracujazeiro silvestre com quádrupla aptidão: consumo in natura, processamento industrial, ornamental e funcional. In D. t. d. p. s. PASSITEC” (Ed.), vol. 4 (pp. 2)
- Gadioli, I. L. (2017). Obtenção, caracterização química, propriedades antioxidantes e antimicrobianas de extratos de polpas, sementes e folhas de passifloras silvestres para formulação de nanoemulsões. In U. d. Brasília (Ed.)). Brasília
- Gadioli, I. L., da Cunha, M. S., de Carvalho, M. V., Costa, A. M., & Pineli, L. L. (2016). A systematic review on phenolic compounds in Passiflora plants: Exploring biodiversity for food, nutrition, and popular medicine. *Crit Rev Food Sci Nutr*, 0.10.1080/10408398.2016.1224805
- Gautier, H., Massot, C., Stevens, R., Serino, S., & Genard, M. (2009). Regulation of tomato fruit ascorbate content is more highly dependent on fruit irradiance than leaf irradiance. *Ann Bot*, 103(3), 495-504.10.1093/aob/mcn233
- Gomes, S., Portugal, L., Anjos, J., Jesus, O., Oliveira, E., David, J., & David, J. (2016). Accelerated solvent extraction of phenolic compounds exploiting a Box-Behnken design and quantification of five flavonoids by HPLC-DAD in Passiflora species. *Microchemical Journal*, in press.doi:10.1016/j.microc.2016.12.021
- Gregan, S., Wargent, J. J., Liu, L., Shinkle, J., Hofmann, R., Winefield, C., Trought, M., & Jordan, B. (2012). Effects of solar ultraviolet radiation and canopy manipulation on the biochemical composition of Sauvignon Blanc grapes. *Australian Journal of Grape and Wine Research*, 18, 11.doi: 10.1111/j.1755-0238.2012.00192.x
- Huang, W.-y., Zhang, H.-c., Liu, W.-x., & Li, C.-y. (2012). Survey of antioxidant capacity and phenolic composition of blueberry, blackberry, and strawberry in Nanjing. *Journal of Zhejiang University-Science B*, 13(2), 94-102
- Kläring, H. P., & Krumbein, A. (2013). The effect of constraining the intensity of solar radiation on the photosynthesis, growth, yield and product quality of tomato. *Journal of Agronomy and Crop Science*, 199(5), 351-359
- Ku, S., Kwak, S., & Bae, J. (2014). Orientin inhibits high glucose-induced vascular inflammation in vitro and in vivo. *Inflammation*, 37(6), 2164-2173
- Larrauri, J. A., Rupérez, P., & Saura-Calixto, F. (1997). Effect of drying temperature on the stability of polyphenols and antioxidant activity of red grape pomace peels. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 45(4), 3.10.1021/jf960282f
- Lees, D., & Francis, F. (1972). Standardization of pigment analyses in cranberries. *HortScience*
- Lima, V., Meló, E., I., M. M., Prazeres, F., Musser, R., & Lima, D. (2005). Total phenolic and carotenoid contents in acerola genotypes harvested at three ripening stages. *Food Chemistry*, 90, 3.doi:10.1016/j.foodchem.2004.04.014
- Machado, A. K., Andrezza, A. C., da Silva, T. M., Boligon, A. A., do Nascimento, V., Scola, G., Duong, A., Cadoná, F. C., Ribeiro, E. E., & da Cruz, I. (2016). Neuroprotective effects of Açai (Euterpe oleracea Mart.) against rotenone in vitro exposure. *Oxidative medicine and cellular longevity*, 2016
- Mellisho, C. D., Egea, I., Galindo, A., Rodríguez, P., Rodríguez, J., Conejero, W., Romojaro, F., & Torrecillas, A. (2012). Pomegranate (Punica granatum L.) fruit response to different deficit irrigation conditions. *Agricultural water management*, 114, 30-36
- Mierziak, J., Kostyn, K., & Kulma, A. (2014). Flavonoids as important molecules of

- plant interactions with the environment. *Molecules*, 19(10), 16240-16265
- Pandey, M. M., Khatoon, S., Rastogi, S., & Rawat, A. K. S. (2016). Determination of flavonoids, polyphenols and antioxidant activity of *Tephrosia purpurea*: a seasonal study. *Journal of integrative medicine*, 14(6), 447-455
- Petrussa, E., Braidot, E., Zancani, M., Peresson, C., Bertolini, A., Patui, S., & Vianello, A. (2013). Plant flavonoids—biosynthesis, transport and involvement in stress responses. *Int J Mol Sci*, 14(7), 14950-14973
- Prior, R. L., Fan, E., Ji, H., Howell, A., Nio, C., Payne, M. J., & Reed, J. (2010). Multi-laboratory validation of a standard method for quantifying proanthocyanidins in cranberry powders. *J Sci Food Agric*, 90(9), 1473-1478.10.1002/jsfa.3966
- Pulido, R., Bravo, L., & Saura-Calixto, F. (2000). Antioxidant activity of dietary polyphenols as determined by a modified ferric reducing/antioxidant power assay. *J Agric Food Chem*, 48(8), 3396-3402
- Ramaiya, S., Bujang, J., Zakaria, M., King, W., & Sahrir, M. (2013). Sugars, ascorbic acid, total phenolic content and total antioxidant activity in passion fruit (*Passiflora*) cultivars. *J Sci Food Agric*, 93, 7.DOI 10.1002/jsfa.5876
- Remberg, S., Wold, A. B., Sønsteby, A., & Heide, O. M. (2014). Effects of preharvest factors on berry quality. *Acta Hort. (ISHS)*, 1017, 8.10.17660/ActaHortic.2014.1017.21
- Rodriguez-Amaya, D. (2001). *A Guide To Carotenoid Analysis In Food* (Vol. 64). Washington, D. .
- Silva, F., Evangelista, B., & Malaquias, J. (2014). *Normal climatológica de 1974 a 2003 da estação principal da Embrapa Cerrados* (Vol. 1). Planaltina, DF, Brazil.: Embrapa Cerrados.
- Song, J., Smart, R., Wang, H., Dambergs, B., Sparrow, A., & Qian, M. C. (2015). Effect of grape bunch sunlight exposure and UV radiation on phenolics and volatile composition of *Vitis vinifera* L. cv. Pinot noir wine. *Food Chem*, 173, 424-431.10.1016/j.foodchem.2014.09.150
- Vasco, C., Ruales, J., & Kamal-Eldin, A. (2008). Total phenolic compounds and antioxidant capacities of major fruits from Ecuador. *Food Chemistry*, 111(4), 816-823.https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2008.04.054
- Wang, X., Li, C., Liang, D., Zou, Y., Li, P., & Ma, F. (2014). Phenolic compounds and antioxidant activity in red-fleshed apples. *Journal of Functional Foods*.doi: 10.1016/j.jff.2014.06.013
- Wosch, L., dos Santos, K. C., Imig, D. C., & Santos, C. A. M. (2017). Comparative study of *Passiflora* taxa leaves: II. A chromatographic profile. *Revista Brasileira de Farmacognosia*, 27(1), 40-49
- Xu, Zhang, Y., Zhu, L., Huang, Y., & Lu, J. (2011). Influence of growing season on phenolic compounds and antioxidant properties of grape berries from vines grown in subtropical climate. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 59(4), 1078-1086
- Yang, Y., Wolfram, J., Shen, H., Fang, X., & Ferrari, M. (2012). Hesperetin: an inhibitor of the transforming growth factor- β (TGF- β) signaling pathway. *European journal of medicinal chemistry*, 58, 390-395
- Zarrouk, O., Francisco, R., Pinto-Marijuan, M., Brossa, R., Santos, R. R., Pinheiro, C., Costa, J. M., Lopes, C., & Chaves, M. M. (2012). Impact of irrigation regime on berry development and flavonoids composition in Aragonez (Syn. Tempranillo) grapevine. *Agricultural water management*, 114, 18-29
- Zoratti, L., Karppinen, K., Luengo Escobar, A., Häggman, H., & Jaakola, L. (2014). Light-controlled flavonoid biosynthesis in fruits. *Frontiers in plant science*, 5, 534

CAPÍTULO 4 - RESULTADOS E DISCUSSÃO ARTIGO 2

Effect of training system and season on acceptability and sensory profile of *Passiflora setacea* nectars, a wild passion fruit from Brazilian savannah

Environmental factors, sensory profile and acceptance of *Passiflora setacea* nectars

Mariana Veras Oliveira de Carvalho¹, Livia de Lacerda de Oliveira¹, Lauro Melo²,
Ana Maria Costa³

Correspondence to: University of Brasília, Universidade de Brasília: Campus
Universitário Darcy Ribeiro, Universidade de Brasília, Brasília, DF, 70910900, Brazil
mariana.carvalho@ifb.edu.br +5561981942612

¹Human Nutrition Postgraduation Program, College of Health Sciences, Campus
Universitário Darcy Ribeiro, Universidade de Brasília, Brasília, DF, 70910900, Brazil

²Department of Biochemical Engineering School of Chemistry, Federal University
of Rio de Janeiro 21941-909, Rio de Janeiro, Rio de Janeiro, Brazil.

³ Embrapa Cerrados, BR 020, Km18, Laboratory of Food Science, Planaltina,
Federal District, 73310970, Brazil.

ABSTRACT

Passiflora setacea D.C is a passion fruit species native from Brazilian savannah characterized by sweet and pleasant sensory characteristics. Pulp sensory quality of the fruits can be affected by the changes in phenolic compounds, which could be affected by growing environment. This study evaluated the influence of the training system (trellis or espalier), seasons (the weather conditions in periods of drought and rain) on physical-chemical, phytochemical and sensory quality of *Passiflora setacea* nectars, considering consumer's sensory perception using Check all that apply (CATA) tests and consumer's behavior (frequency of consumption of passion fruit, neophobia behavior, knowledge, interest and consumption of functional foods). *Passiflora setacea* nectar is a potential functional beverage, due its contents of polyphenolics and condensed tannins and high acceptability. Frequency of consumption of passion fruit and functional food products did not affect nectar acceptance whereas neophilic pattern or higher level of knowledge and acceptance about functional foods favored greater acceptance of *P. setacea* nectars. Although training system and season had impact on pH, TSS, TA, polyphenolics and condensed tannins content, these environment factors had no influence on acceptance. However, there was an interaction between these factors, which should be considered with a view to market projection.

KEYWORDS: Passion fruit; *Passiflora setacea*; CATA; acceptability; functional food.

4.1. INTRODUCTION

The functional food industry has grown considerably in the last decades and the marketing projection indicates growth in the sector, especially in the functional beverages segment. Consumer interest in healthy products and their concern about diet has increased substantially worldwide. There is now a greater awareness that it is possible to reduce the risk of disease and maintain better health through diet and lifestyle. At the same time, consumers are looking for the convenience of ready-to-eat industrialized products, which is associated with increased demand for nutraceutical beverages such as vitamin water, athlete energy drinks, liquid dietary supplements, antioxidant fruit juice mixes and ready-to-drink beverages (RTD), which offer significant market growth opportunities (Bournepartners, 2017) .

Brazil is the largest global producer and consumer of *Passiflora edulis* Sims, the yellow passion fruit, which has high economic significance to the country (Janick e Paull, 2008). The wide biodiversity of the *Passiflora* genus in the country offers great potential for the processing fruits in the agroindustry (Lessa, 2011). Other than these species, *Passiflora setacea* D.C is a passion fruit known as *maracujá do cerrado* (savannah passion fruit) or *maracujá do sono* (sleep passion fruit), a popular name that is used due its association with sleep modulation (Bomtempo *et al.*, 2016). Due its high level of bioactive compounds, *Passiflora setacea* nectar stands out as a promising functional beverage (Bomtempo *et al.*, 2016). The *Passiflora setacea* variety BRS-PC was obtained by genetic breeding program of Embrapa Cerrados with the aim of enhancing the harvest productivity of the fruits and the fruits size (Embrapa Cerrados, 2015). *P. setacea* BRS-PC have high-yield, light yellow pulp, sweeter and less acid pulp, when compared with *Passiflora edulis*, and it can be consumed fresh or used to prepare juices and gourmet foods.

When considering the insertion of a novel product into the functional food market, it is important to consider that fruit properties is influenced by genetic factors, physiological conditions of the specific crop as well as by environmental factors such as rainfall, humidity, temperature and day length (Rani Das *et al.*, 2013). Besides climate, pre-harvest conditions, such as training systems, may alter passion fruit sensory and nutritional qualities (Gama *et al.*, 2013).

Passion fruit plants need a support system to provide the branches an optimal distribution for good productivity (Komuro, 2008). The most frequent training systems used to produce passion fruit in Brazil are the horizontal trellis and the vertical espalier, but the last is more often used by farmers due its lower cost of installation (Guimarães *et al.*, 2013). However, the horizontal trellis provide better productivity when compared with vertical espalier, probably due to the fact that horizontal trellis promote better exposure of the branches and leaves to the sun and of the flowers to the pollinator (Lambers *et al.*, 2008).

The differences between the two training systems could affect the nutritional and sensory quality of the fruits, because of the relationship between the phytochemical composition and photosynthetic process (Heim *et al.*, 2002; Lim *et al.*, 2015). Polyphenolics, apart from possessing valuable biological properties, are an important constituent of fruit quality because of their contribution to the flavor, tactile sensation, color and aroma (Troszyńska *et al.*, 2011).

Other factors, such as temperature, atmospheric humidity and rainfall, could contribute to the sensory and phytochemical quality of the fruits due to their effect modulating the secondary metabolites pathways (Rodrigues *et al.*, 2013; Bomtempo *et al.*, 2016). Data regarding these effects on the sensory profile of fruits are rather scarce and the findings from the few reports are often limited to evaluate

traditional/organic systems or sunlight influences on fruit shape or size (Zhang *et al.*, 2007; Zervoudakis *et al.*, 2012; Domingos *et al.*, 2016).

In order to develop a novel functional beverage, it is necessary to study consumer attitudes towards functional foods and which factors influence the consumption and acceptability behaviors for functional products (Siro *et al.*, 2008). Acceptance is determined by a multitude of circumstances such as individual health concerns, consumers' familiarity with functional concepts and with the functional ingredients, consumption habits, the communication mode of health effect, among others (Annunziata e Vecchio, 2013).

In this context, the aim of this study was to evaluate the influence of the support system (trellis or espalier) and seasons (drought or rain) on physical-chemical composition, phytochemicals compounds, sensory profile and acceptability of *Passiflora setacea* variety BRS-PC's nectars, assessing whether segmented consumer groups perceive *Passiflora setacea* nectar differently.

4.2. MATERIALS AND METHODS

4.2.1. Characterization of geographic and environmental conditions

The possible influence of the climate on the physical-chemical composition, phytochemicals compounds and sensory quality of *P. setacea* pulp was evaluated by the total precipitation (mm), humidity (%), maximum, minimum and average week temperatures (°C), besides sunlight exposure (h). Climate data of the study area refer to the nearest meteorological station, located in Experimental Farm of Embrapa Cerrados, 15° 35'30" S, 47° 42'30"W (Distrito Federal, Brazil Midwest), with 1007 meters of altitude. Data were collected using an automatic station with electronic sensors (Campbell Scientific®).

Climate conditions were analyzed according to the life cycle of *P. setacea* fruit,

which comprises three stages: anthesis, fruit development, and fruit ripening, during about six weeks (Ataíde *et al.*, 2012). Data from these periods were observed in dry (September / October 2014) and rainy seasons (February / March 2015).

4.2.2. Processing of *Passiflora setacea* pulps

The fruits of *Passiflora setacea* variety BRS-PC were harvested at full maturity, at Experimental Farm of Embrapa Cerrados, 15° 36'13.02 "S, 47° 43'17.34 (Federal District, Brazil Midwest).

P. setacea fruits were cultivated in vertical espalier or horizontal trellis, with a total number of 40 plants in each training system. Fruits from espalier or trellis training systems were harvested in the five weeks of higher productivity of the crop in each evaluated season. Fallen fruits were harvested to guarantee their ripeness. The fruits were sanitized and pulped. The pulps were vacuum packed (vacuum sealer model 200B, Selovac, Brazil) in polyethylene bags (portions of 1 liter), frozen and stored at -15 °C, until chemical and sensory evaluation.

Thus, four *P. setacea* pulps were obtained and used to nectar's preparation:

1- Espalier dry season (ED), 2- Espalier rainy season (ER), 3- Trellis dry season (TD), 4- Trellis rainy season (TR).

4.2.3. Consumers tests

This project was approved by the Research Ethics Committee of the University of Brasilia, number 01988112.1.3001.0029.

4.2.4. Descriptors definition

Check-all-that-apply (CATA) test (Lado *et al.*, 2010; Giacalone *et al.*, 2013) was carried out for descriptive characterization of *P. setacea* nectars. In order to

generate sensory descriptors for CATA, we used Repertory Grid method (Kelly, 1955). Seventeen assessors with the minimum of twice a month consumption of passion fruit nectar (industrialized or fresh) were invited for descriptors elicitation. To evaluate sensory acuity, a sequence of eight triangular tests was performed with passion fruit nectars with different pulp and sucrose concentrations. Assessors who hit at least 60% of triangular tests were selected to participate. Eight assessors were selected to elicit CATA descriptors by Repertory Grid method. The participants were $22,6 \pm 3.5$ years old, 50% of female.

Three samples of *P. setacea* nectars were used to elicit sensory characteristics, being two similar and one different, presented in triadic form, according to Repertory Grid procedure (Kelly, 1955). All samples were prepared at 33% of pulp with no sugar added, thus avoiding masking the differences between samples. Assessors were asked to observe the appearance, aroma, flavor and texture of *P. setacea* nectar samples, trying to list similarities and differences among them. Constructs were written on a board and participants were asked to find the better way to describe each construct (products characteristics) (Braidot *et al.*, 2008). Assessors have latter reached a consensus on the appropriate descriptors for the products. (Lawless e Heymann, 2010; Antúnez *et al.*, 2017)

4.2.5. Sample preparation to consumer tests and chemical analysis of *Passiflora setacea* nectars

Samples of *P. setacea* nectars Espalier dry season (ED), Espalier rainy season (ER), Trellis dry season (TD) and Trellis rainy season (TR) were prepared using 33% of their frozen pulp and sweetened with 4.5% of sucrose. This concentration was defined by previous tests (data not shown), aiming to balance the acidity of the pulp by making it slightly sweeter without masking the other characteristics. The

balance of acidity with sucrose was necessary, once the same samples of CATA test are used for consumers' acceptance test, in which samples must be taken in the usual way of consumption.

4.2.6. Chemical analysis of *Passiflora setacea* nectars

An aliquot of each nectar sample was reserved to the physical-chemical and phytochemical analysis. Total soluble solids content (TSS) (measured as °Brix), pH and titratable acidity (TA) analyses were performed by standard procedures (A.O.A.C., 2006), in triplicate. TA results were expressed as percentage of citric acid. Also, the TSS-to-TA ratio was calculated.

To phytochemical analysis, the extracts were prepared according to Larrauri *et al.* (1997). Total polyphenolic content (TPC) was analyzed by Folin Ciocalteu colorimetric using the Singleton e Rossi (1965) method and the results were expressed in mg of gallic acid equivalent in fresh mass (mg GAE.100 g⁻¹ FM).

Condensed tannins (TA) or total dimeric anthocyanin content were analyzed by DMAC (4-dimethylaminocinnamaldehyde) method, performed according to Prior *et al.* (2010) expressed in proanthocyanidins B2 in fresh mass (mg PB2.100 g⁻¹ FM).

4.2.7. Consumers' Acceptance and CATA tests

Consumer affective and descriptive tests were performed in the central area of University of Brasília (central location test) with 129 regular consumers of passion fruit (*Passiflora edulis* f. *flavicarpa*) nectars (at least once a week). Consumers were not informed as to whether it was a new species of *Passiflora* or its functional properties. Those consumers were students, professors, employees and visitors of the university, 53% female, 78% between 18 and 24 year old, 17% between 25 and 34

year old and 5% older than 35.

Acceptance was assessed with an 9-point hedonic scale anchored from “1 - disliked extremely” to “9 - liked extremely”. Afterwards, consumers were asked to complete CATA question. In the CATA test, the instruction given to assessors was: “Please, check all options that applies to the nectar you tasted”. The attributes were organized in appearance, aroma, flavor and texture categories and attribute order was randomized between samples and across consumers, according to Ares, G., Tarrega, A., *et al.* (2014). Consumers received approximately 30 mL of each sample at 10° C ± 1, served in a plastic cup identified with a three-digit random code number. Samples were presented to consumers in monadic sequence, following a randomized complete block design. Crackers and taste-free water were provided for palate cleansing between samples.

4.2.8. Consumers characterization

Data from consumers were collected with an online form, using a commercially available data collection system (“Google Forms”, Google Inc., United States, 2014). These data included gender, age, education level and frequency of passion fruit nectar consumption, with a 7-point frequency scale (1 = never, 2= rarely; 3= once at three months; 4= once a month; 5= more than twice a month; 6= once a week; 7=twice or more a week). Consumption frequency of functional foods was obtained considering the consumption patterns of various functional food products (Szakaly *et al.*, 2012), in a seven-point consumption frequency scale (from 1 = never to 7 = always). Information, knowledge and consumption of functional foods were obtained with a "Consumer acceptance of functional foods: cognitive and attitudinal determinants questionnaire" (Verbeke, 2005), previously validated for the Brazilian population by Corso (2012). In

order to determine associations between consumer's behavior in novel foods situation and *P. setacea* nectars' acceptance, it was also applied a 5-point Food Neophobia Scale (Pliner e Hobden, 1992) .

In order to simplify the data analysis and the comparisons, age data were condensed into two categories: Bracket 1 (under 24 y), Bracket 2 (over 25 y). Education levels were classified as high school, graduation and post-graduation.

Consumption frequency of passion fruit nectar and functional foods products was classified in high user (≥ 4) or low user (< 3). Consumer acceptance, cognitive and attitudinal determinants of functional foods were classified according to the average in low (< 3), medium ($= 3$) or high (> 3).

Neophobics and neophilics were classified based on their food neophobia score (FNS). The range of possible scores in this 5-point FNS is from 10 to 50 points. Food neophobics were identified by FNS scores of > 20 points and food neophilics by scores ≤ 20 (Henriques *et al.*, 2009).

4.2.9. Statistical analysis

Two-way analysis of variance (ANOVA) was performed on data of chemical analysis using training system and season and their interaction as sources of variation. Significant differences were checked using Tukey's test ($p \leq 0.05$).

Consumer overall liking scores were analyzed using factorial ANOVA in order to check the significance of the following effects: training system (fixed), season (fixed), consumer (random) and interaction between training system and season. Significant differences were checked using Tukey's test ($p \leq 0.05$) before and after cluster analysis of acceptance data.

In order to identify groups of consumers with different preference patterns, a hierarchical cluster analysis (HCA) was performed on overall liking data. Euclidean

distances and Ward's aggregation method were applied. Independent samples Student's t-test was performed to compare acceptance between clusters ($p \leq 0.05$) for each nectar.

Non-parametric Cochran's Q tests analyses were carried out for each CATA descriptor to evaluate if there were differences ($p \leq 0.05$) in consumer perception of the nectars. Multiple pairwise comparisons were carried out using the McNemar (Bonferroni). Penalty analysis was carried out on clusters responses to associate the overall liking with a deviation from the ideal for each attribute from the CATA question. (Plaehn, 2012; Ares, Gastón *et al.*, 2014). From CATA contingency table of each cluster, z test for two frequencies (with 5 % significance level) were performed in order to evaluate if clusters differed in usage of each attribute.

The existence of differences between the clusters data (age, frequency of consumption of passion fruit, neophobia, knowledge, interest and consumption of functional foods) was evaluated using the z tests for two frequencies, with 5 % significance level.

All statistical analyses were performed using XLSTAT 2016 software (Addinsoft, France).

4.3. RESULTS AND DISCUSSION

4.3.1. Geographic and environmental conditions

Fruit maturity is influenced by genetic factors, physiological condition of the specific crop as well as by environmental factors such as rainfall, humidity, temperature and day length (Rani Das *et al.*, 2013). Pre-harvest conditions are some of the factors that may lead to changes in sensory and nutritional qualities of passion fruits (Gama *et al.*, 2013). In fact, secondary metabolites represent a chemical interface between plants and environment factors (Tilahun *et al.*, 2017). In other words, environment

conditions can redirect a metabolic route, affecting phytochemicals' biosynthesis.

With respect to season effect, Figure 1 shows that environmental conditions were different in dry and rainy seasons. Maximum temperature and sunlight hours were higher in dry season, whereas rain and relative humidity were lower in the same period, while minimum temperature was lower in dry season ($p < 0.05$). These data are in agreement with Brazilian savannah climate characteristics. According to climatological data from the Experimental Farm of Embrapa Cerrados, Distrito Federal, Brazil Midwest (Silva *et al.*, 2014), during the period 1994–2003, the warmer temperatures occur between August and October (dry season). Dry season is also characterized by few rains and low relative humidity, around 31% in August (Silva *et al.*, 2014).

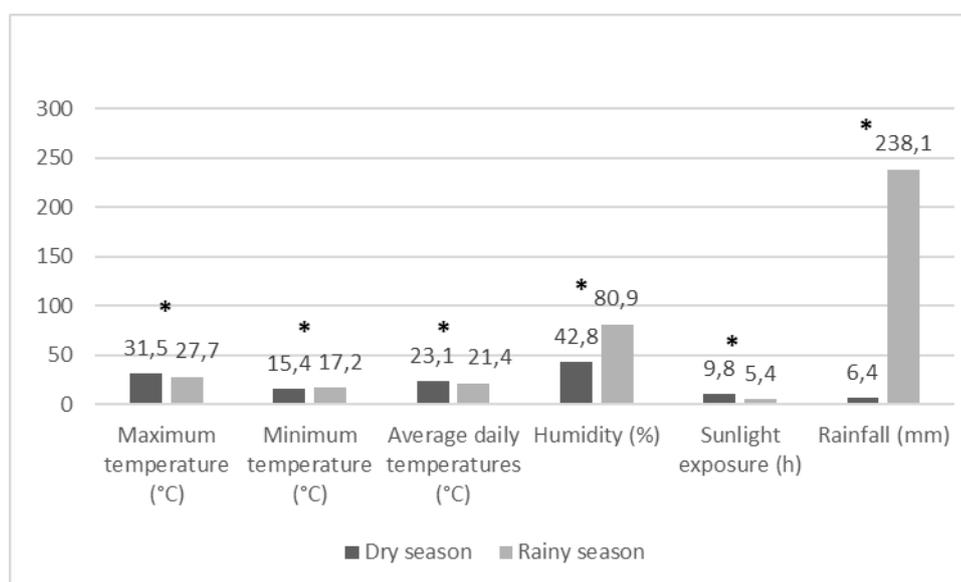


Figure 1. Maximum, minimum and average daily temperatures (°C), Humidity (%), sunlight exposure (hours) and monthly rainfall data, comparing dry season and rainy season.

* Significant difference between seasons according to Independent samples Student's t-test ($p < 0.05$).

Considering that light is regarded as a primary regulating factor for plant growth and development (Zervoudakis *et al.*, 2012), in the present study, the sunlight hours showed significant reduction in rainy season ($p < 0.001$), especially on rainy days, due

to cloudiness, which may result in changes in fruit quality.

4.3.2. Variation in physical-chemical quality

It was evaluated the effect of the training systems (in espalier or trellis), seasons (in dry or rainy season) and their interaction on the physical-chemical composition of *P. setacea* nectars. Significant differences were found between factors and their interaction according to the ANOVA model, as shown table 1. However in the further examination (Tukey's test ($p \leq 0.05$)) within each sample, the difference was statistically significant only for some of the *P. setacea* nectars.

Table 1. Physical-chemical characteristics of *Passiflora setacea* nectars.

	ED	ER	TD	TR	Factorial ANOVA p value		
					Training system (TS)	Season (S)	TS x S
pH	2.42B (± 0.01)	2.51A (± 0.01)	2.37C (± 0.01)	2.43B (± 0.02)	<0.001	<0.001	0.059
TSS (%)	13.10C (± 0.01)	13.06C (± 0.01)	14.90A (± 0.05)	14.76B (± 0.05)	< 0.0001	0.008	0.067
TA (%CA)	3.22B (± 0.01)	3.24B (± 0.05)	3.31A (± 0.05)	2.87C (± 0.02)	< 0.0001	< 0.0001	< 0.0001
Ratio	4.06C (± 0.02)	4.48B (± 0.02)	4.02C (± 0.06)	5.14A (± 0.04)	< 0.0001	< 0.0001	< 0.0001

Espalier dry season (ED), Espalier rainy season (ER), Trellis dry season (TD), Trellis rainy season (TR). Means (standard deviation) in the same row followed by different letters are statistically different according to Tukey's post hoc ($p < 0.05$)

Comparing espalier and trellis systems, trellis nectars (mean 2.44) had lower pH than espalier nectars (mean 2.47). Contrary, Ristic *et al.* (2007) evaluated the shading influence on Shiraz grapes's wine sensory properties and did not observe significant difference between shaded fruit to wine control berries. Trellis samples presented significantly higher ($p < 0.05$) TSS (mean 14.83%) than espalier nectars

(13.08%) . Friedel *et al.* (2015) evaluated the quality of shaded and illuminated grapes and found lower sugar accumulation (TSS) in shaded samples, contrary to our results. However, it is important to consider that there was difference in the intensity of shade used in the studies. We used a partial shading, whereas in Friedel *et al.* (2015) bunches were sheltered in lightproof boxes.

Considering season effect, pH value was lower in the dry season (mean 2.40) when compared to rainy season (mean 2.47) ($p=0.008$). Castellarin *et al.* (2017) also observed lower pH values in water stressed plants, which corresponded to the samples ED and TD. Statistical differences in TA (% ca) among treatments were less clear than for pH, and an interaction between training system and season factors was observed.

The ratio between sugars and acids or TSS and TA may be a critical factor affecting the sensory quality of nectars (Laaksonen *et al.*, 2014). In the present study, as expected due to its lower TA (2.87% ca), TR presented significant higher ratio (5.14) than other samples.

4.3.3. Phytochemical composition of *Passiflora setacea* nectars

Table 2 shows the phytochemical composition of *P. setacea* nectars. The evaluation of the effect of environment conditions such as training system, season and their interaction on phytochemicals such as polyphenolics, especially flavonoids and tannins, is important due to their function as determinants of bioactive and sensory quality of fruits, such as effects on color, aroma, astringency and antioxidant properties (He e Giusti, 2010).

Total phenolics compounds were fifty percent lower ($p < 0.05$) in trellis samples (TD and TR) than in espalier samples (ED and ER). This result can be explained by the increase of flavonoid biosynthesis in response to UV radiation exposure in higher

in espalier training system, as suggested by Gregan *et al.* (2012).

Table 2. Total phenolics compounds and tannins (proanthocyanin B2) in *Passiflora setacea* nectars.

	ED	ER	TD	TR	Factorial ANOVA p value		
					Training system (TS)	Season (S)	TS x S
TPC (mg GAE/100g FM)	136.7B (±3.2)	167.6A (±2.9)	76.1C (±4.9)	81.8C (±4.2)	<0.001	<0.001	<0.001
Condensed tannins (µg PB/100g FM)	338.8B (±11.8)	594.0A (±16.2)	200.0C (±9.3)	16.1D (±0.6)	< 0.0001	0.008	< 0.0001

Espalier dry season (ED), Espalier rainy season (ER), Trellis dry season (TD), Trellis rainy season (TR). Means (standard deviation) in the same row followed by different letters are statistically different according to Tukey's post hoc ($p < 0.05$)

In trellis training system, the season had no effect in TPC, whereas in espalier, contrary to the expected, the rainy season presented higher TPC, since moderate water stress can induce a production of phenols in shikimate pathway (Petruzza *et al.*, 2013).

Regarding condensed tannins levels, espalier training system presented higher condensed tannins values than trellis. Friedel *et al.* (2015) investigated the influence of light on the flavonoids biosynthetic pathways in grape bunches and observed significant lower condensed tannins (proanthocyanin B2) in shaded fruits, similar to what we observed for *P. setacea*, with lower content of condensed tannins in shaded fruit (TD and TR). According to Meletti (2011), in trellis training system, the exposure of passion fruit to light is decreased, leading to lower expression of tannins in the fruits since flavonoid's biosynthesis is light-induced, for UV-protection (Zoratti *et al.*, 2014).

Season factor had significant effect on condensed tannins, both in espalier and trellis system. In espalier, rainy season (594 $\mu\text{g PB}/100\text{g FM}$) presented 75% higher values of condensed tannins than in dry season (338 $\mu\text{g PB}/100\text{g FM}$). Contrary, in trellis training system, condensed tannins in dry season (TD) was eight-fold higher than in rainy season (TD). It was expected higher levels of condensed tannins in dry season fruits since this abiotic stress play a significant role in the accumulation of flavonoids in fruit (Sanchez-Rodriguez *et al.*, 2011).

4.3.4. Consumer Overall Liking Scores

The overall liking of the evaluated samples ranged from 6.2 to 6.8, as shown in Table 3. Pineli *et al.* (2016) assessed the acceptance of orange juices reduced in sugar and observed that the highest orange juice's acceptance (overall liking 6.12 to 8.5% sugar concentration sample) was lower than that reported in this study (overall liking 6.8). Rocha e Bolini (2015) determined the acceptance of passion fruit nectar sweetened with sucrose or different sweeteners and evidenced that the overall liking found in passion fruit nectar was 6.1 to the sample sweetened with sucrose (9.4%). In the present study, the mean of *P. setacea* nectars overall liking was greater than the observed by Rocha e Bolini (2015). It is important to note that *P. setacea* nectar samples were sweetened with only 4.5 g/100g of sucrose, which highlights the importance of using *P. setacea* as a functional healthier option, given the recommendation of the World Health Organization to reduce added sugar intake. (Who, 2015)

Table 3. Acceptance and cluster hierarchical analysis applied to *Passiflora setacea* nectars.

Overall liking	ED	ER	TD	TR	p (Factorial ANOVA)		
					Training system (TS)	Season (S)	TS x S
General (n=129)	6.8A	6.2B	6.3B	6.7AB	0.882	0.391	0.001
Cluster 1 (n=54)	7.9Aa	7.1Ba	7.6ABa	7.9Aa	0.102	0.163	0.001
Cluster 2 (n=75)	5.9Ab	5.6Ab	5.4Ab	5.7Ab	0.278	0.838	0.167
p (t-test)	p<0.001	p<0.001	p<0.001	p<0.001			

Espalier dry season (ED), Espalier rainy season (ER), Trellis dry season (TD), Trellis rainy season (TR). Means (standard deviation) in the same row followed by different letters are statistically different according to Tukey's post hoc ($p<0.05$) Between clusters 1 and 2, means with different small letters are significantly different ($p<0.05$), according to independent samples Student's t-test.

The training systems (trellis or espalier) and seasons (dry or rainy) as isolated factor did not have significant effect on acceptability of *Passiflora setacea* nectars. On the other hand, it was observed a significant interaction between training system and season factors, since in espalier, samples of dry season (ED) were more accepted than the rainy one (ER). Contrary, in trellis system, acceptance did not differ between dry (TD) and rainy samples (TR) ($p>0.05$) (Table 3).

Hierarchical cluster analysis on overall acceptance data resulted in two groups of consumers with 54 (Cluster 1) and 75 assessors (Cluster 2). The cluster 1 preferred all *Passiflora setacea* nectars samples than Cluster 2. Comparing samples' acceptance within clusters, cluster 1 preferred samples ED and TR as opposed to ER.

With respect to cluster 2, analysis of variance (ANOVA) indicated no significant effects of support system, season factor neither their interaction on nectars' overall liking ($p>0.05$), resulting in no significant differences among ED, ER, TD and, TR within this cluster.

4.3.5. Check-All-That-Apply (CATA)

Check-all-that-apply questions (CATA) are an increasingly popular technique for rapid sensory profiling of food products (Ares, G., Tarrega, A., *et al.*, 2014). The four samples of *P. setacea* nectars were evaluated for appearance, aroma, flavor and texture attributes by a descriptive CATA panel consisted of 24 attributes (faint yellow, brownish yellow, opaque, translucent, stocky, not much stocky, for appearance; acid aroma, sweet aroma, leaves aroma, flowers aroma, characteristic aroma of passion fruit, for aroma; bitter taste, acid taste, sweet taste, woody flavor, characteristic flavor of passion fruit for flavor; and dense, not very dense, heterogeneous, homogeneous, presence of particles, viscous, fluid and astringent for texture). CATA has already been applied to orange juice, with ten samples and 38 attributes (Lee *et al.*, 2012), orange-flavored powdered drinks with seven samples and 19 attributes (Ares *et al.*, 2011), apple juices, raspberry drinks, and tea (Vidal *et al.*, 2015) with number of samples ranging from four to six and number of attributes, from 12 to 17, similar to the numbers used in this study.

Consumers checked from 3 to 14 terms of the CATA question to describe the evaluated *Passiflora setacea* nectars samples. The most frequent terms of the CATA question were “faint yellow”, “acid taste”, “homogeneous” and “fluid” (table 4). Meanwhile, the least used terms were “viscous”, “heterogeneous” and “astringent”. Lee *et al.* (2012) evaluated the use of CATA questions to describe the sensory properties of orange juices and observed that the most used terms were “yellow color” to appearance, “fresh orange flavor” and “high acidic/sour/tart taste” to flavor, similarly to *P. setacea* nectars.

Table 4. Cochran's Q tests for each attribute in *Passiflora setacea* nectars.

Attributes	p-values	ED	ER	TD	TR	p (z test)
brownish yellow*	0.000	7 a	25b	10a	65c	0.01
faintly yellow*	0.000	105c	76b	91bc	29a	< 0.0001
Translucent*	0.027	25a	14a	23a	13a	0.02
Opaque ^{ns}	0.167	29a	42a	41a	39a	0.02
not very stocky*	0.023	40a	33a	31a	20a	0.92
Stocky*	0.000	23a	28a	28a	50b	0.01
acid aroma ^{ns}	0.218	33a	25a	30a	21a	< 0.0001
sweet aroma ^{ns}	0.943	45a	41a	44a	44a	< 0.0001
characteristic aroma ^{ns}	0.716	44a	51a	46a	46a	0.01
leaves aroma ^{ns}	0.314	28a	32a	23a	34a	0.08
flowers aroma ^{ns}	0.345	39a	42a	45a	33a	0.03
acid taste ^{ns}	0.198	63a	59a	74a	64a	< 0.0001
woody flavor ^{ns}	0.529	22a	29a	25a	30a	0.30
bitter taste ^{ns}	0.402	14a	17a	23a	19a	0.58
sweet taste *	0.038	58a	39a	44a	45a	0.01
characteristic flavor ^{ns}	0.155	55a	60a	45a	53a	< 0.0001
Adstringente ^{ns}	0.077	13a	11a	23a	16a	0.18
Fluid *	0.001	69b	54ab	56ab	44a	< 0.0001
Heterogeneous *	0.019	8a	18ab	24b	15ab	0.32
Homogeneous *	0.000	82b	64ab	65ab	47a	< 0.0001
Dense *	0.001	17a	20ab	19a	39b	0.06
not very dense *	0.023	49b	38ab	44ab	29a	0.01
presence of particles *	0.000	19a	42b	19a	62c	0.02
Viscous ^{ns}	0.051	9a	15a	9a	20a	0.35

Espalier dry season (ED), Espalier rainy season (ER), Trellis dry season (TD), Trellis rainy season (TR) (*) Indicates significant differences ($p < 0.05$), whereas (ns) indicates no significant differences according to Cochran's Q test for each attribute.

Different letters in a row imply significant difference according to multiple pairwise comparisons: McNemar (Bonferroni) test ($p < 0.05$).

p (z test) - z-test for two proportions 95% confidence interval on the difference between the proportion of attributes checked by each cluster

Table 4 shows the frequency each of the terms of the CATA question was used to describe the evaluated *P. setacea* nectar samples. Significant differences were found in the frequencies of 12 out of the 24 terms of the CATA question. Significant differences were found for the terms related to appearance, sweetness and texture of the nectars. This suggests that this type of question was able to detect differences in consumers' perception of the sensory characteristics of the evaluated nectars. In fact,

the perception of sensory attributes differs between clusters, as will be discussed forward.

On the other hand, no significant differences among the samples were found for *Passiflora setacea* nectar aroma and flavor attributes intensities (except for sweet taste). Furthermore, no significant differences were found for “bitter taste”, “astringent” and “viscous”. The absence of significant difference for aroma and flavor attributes intensities was reported by Lado *et al.* (2010) and Pineli *et al.* (2016), who applied a CATA for evaluation of strawberries and orange juices. Our results suggest either that season or training system did not result in changes of aroma of *P. setacea*, or that CATA question was not sensitive to detect a possible slight difference among the treatments, according to consumers’ perception. Ares e Jaeger (2014) discuss the need to evaluate the discriminative ability of CATA questions when working with highly similar products.

With respect to the effect of the training systems on sensory profile, it is important to highlight that *P. setacea* plants with same age were cropped in two training systems (vertical espalier or horizontal trellis) in the same area. This suggests that climatological conditions, irrigation and fertilization were standardized to both treatments. Sensory variations were expected, since the incidence of sunlight varies in trellis and espalier systems, so it could affect the physical-chemical quality of the samples (Table 1).

Considering season effect, regarding to appearance attributes, it was observed significant effect on the color of *P. setacea* nectars, since dry season samples (TD and ED) were more characterized as “fainty yellow”. Similarly, Raffo *et al.* (2006) evaluated climate factors on the final quality of cherry tomatoes and did not find clear evidence of seasonal trends of color intensity, with climatic parameters.

With regard to training system, no significant difference was found for “translucent”, “opaque”, “not very stocky”. Although there were no visual differences regarding the appearance of the samples, there was an interaction between season and support system on texture attributes, since nectar from espalier system dry season (ED) was more checked as “fluid” and “homogeneous” and less checked as “dense” than nectar from trellis system rainy season (TR).

Considering flavor attributes, there was no significant difference on flavor attributes “characteristic flavor of passion fruit”, “bitter taste”, “wood flavor”, “acid taste” and “sweet taste”. Differences in the last two attributes were expected, given that pH, TA and SST varied significantly among samples as shown in Table 1.

The sunlight hours showed significant reduction in rainy season (Figure 1). Generally, lower total solar radiation decreases the content of sugars (Zervoudakis *et al.*, 2012). Thus, samples from rainy season would be expected to be less sweet. However, in our results, flavor, including sweetness, was not influenced by season, differently from the observed by Castro-Vázquez *et al.* (2010) who studied the changes induced by geographical origin on sensory profiles of chestnut honeys (*Castanea sativa*) and observed changes in “candy” aroma and “sweet” taste between samples.

Regarding the season effect, the rainy and dry season samples (ED, ER, TD and TR) did not vary on flavor and most texture attributes, which is in contrast with the study of Bugaud *et al.* (2007) who observed that temperature and cumulate rainfall during banana bunch growth had impact on texture of ripe bananas. Rain samples (ER and TR) were mostly described using the descriptor “presence of particles” in comparison with dry season samples (ED and TD) ($p < 0.05$). Higher presence of seeds fragments could explain this characteristic, but additional studies that link climate conditions and “presence or particles” in pulps are necessary.

According to Antúnez *et al.* (2017) researchers need to be aware that consumer-based methodologies, such CATA, may not be the best choice when small differences among samples are to be identified. In the present study, previous triangular tests were performed, and global differences were identified among samples. In this context, CATA was used to clarify which attributes define this global difference and if the two consumers' clusters differ on how they perceive products (Ares e Jaeger, 2015). Comparing clusters CATA contingency table, it was observed that cluster differed ($p < 0.05$) in samples perception in 16 out of the 24 terms of the CATA question (table 4 last column).

Penalty analysis showed that the main drivers of liking were mainly "characteristic flavor", "sweet taste", "homogeneous", "stocky" and "sweet aroma". The attribute "woody flavor" was a driver of disliking of *P. setacea* samples. Comparing penalty analysis based on CATA data of cluster 1 and cluster 2 (Figure 3), we observed that cluster 1 presented as drivers of liking "characteristic aroma", "characteristic flavor", "stocky" and "sweet taste", with no driver of disliking whereas cluster 2 presented "sweet aroma" as driver of liking as well and "acid taste" as driver of disliking. The information on drivers of liking and disliking is an important tool to direct products formulation, trying to increase their acceptance (Ares, Gastón *et al.*, 2014). In this study, clusters perceived samples differently and had distinct drivers of liking, which must be considered on *Passiflora setacea* nectar formulation or on market targeting.

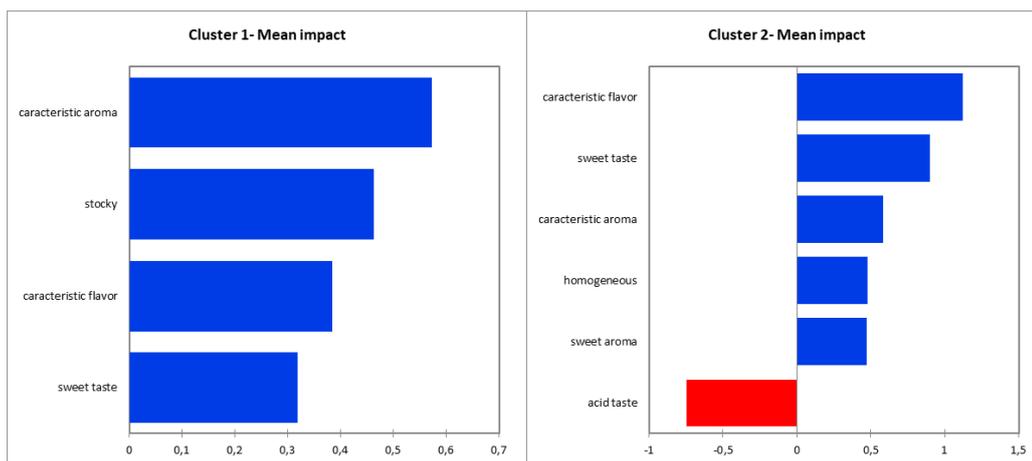


Figure 2. *Passiflora setacea* nectars penalty analysis based on Clusters' CATA frequency table and acceptance.

4.3.6. Consumers characterization

The acceptance of functional foods by the consumers does not only depend on sensory characteristics, being socio-demographic, cognitive and attitudinal factors other determinants of acceptance (Verbeke, 2005). Identifying segments of consumers with different attitudes towards food and nutrition might be important in the characterization of each segment. Thus, we evaluated as demographic data the consumer's age, gender, educational level, frequency of consumption of passion fruit, frequency of consumption of functional products, level of information, knowledge and consumption of functional foods and neophilic or neophobic classification (Table 5).

Table 5. Consumer's characterization according to demographic, consumption and attitudinal variables

Variable	CL1(%)	CL2 (%)	p value
Gender			
Male	48.1a	57.3a	0.323
Female	51.9a	42.7a	0.323
Age			

Under 24y	79.6a	76.0a	0.782
Over 25y	20.4a	24.0a	0.782
Education level			
High school	64.8a	61.3a	0.256
Graduation	24.0a	30.6a	0.836
Post-graduation	11.2b	8.1a	0.775
Frequency of passion fruit nectar consumption			
High user	75.9.a	69.3a	0.526
Low user	24.1a	30.7a	0.526
Consumption frequency of functional foods			
High user	87.0a	84.0a	0.817
Low user	13.0	16.0a	0.817
Information, knowledge and consumption of functional foods			
High level	85.2a	58.6b	0.001
Low level	14.8b	41.4a	0.001
Food Neophobia			
Neophobic	40.7b	66.7a	0.005
Neophilic	59.3a	33.3b	0.005

* In rows, frequencies followed by the same letters do not differ according to z test ($p > 0.05$).

Although it has been reported that women are more interested in healthy eating (Ares e Gambaro, 2007; Ares, Giménez, *et al.*, 2010), this variable did not differ between the clusters for the studied samples. Also, there were no significant differences between clusters 1 and 2 regarding age, and education level. These findings are in agreement with Lähteenmäki (2013), who affirm that consumer's socio-demographic factors have only minor impact on acceptance of functional foods when compared with attitudes towards functional foods.

“Food Neophobia Scale” (Fedrizzi *et al.*, 2012) and “Consumer acceptance of functional foods: cognitive and attitudinal determinants questionnaire” (Almeida, 2017)

are interesting instruments to analyze the segmentation of consumers. Food neophobia is the “reluctance to eat and/or avoidance of novel foods” (Pliner e Hobden, 1992), which characterizes the neophobic behavior. This behavior is most common in children than in adults, but the predisposition to approach or avoid novel foods shows wide variation also in adults (Laaksonen *et al.*, 2016). In the present study, there were more neophobic consumers in cluster 2 (66.7%) than in cluster 1 (40.7%) ($p < 0.05$). According to Mustonen *et al.* (2012), neophobic consumers are unwilling to try novel foods and they use to have lower overall liking means than neophilics. This might explain why cluster 2, with higher proportion of neophobic consumers, gave lower overall liking means to all *P. setacea nectars* samples (unfamiliar food).

Consumer knowledge and beliefs have been identified as the most important determinants of their acceptance (Del Giudice e Pascucci, 2010; Bui, 2015). The “Consumer acceptance of functional foods: cognitive and attitudinal determinants questionnaire” (Verbeke, 2005) showed difference between the two segments in the present study. Cluster 1 distinguished from Cluster 2 in number of consumers with high level of knowledge, behavior and acceptance to functional foods, being higher in Cluster 1 (85.2% vs 58.6%), which could explain the preference of Cluster 1 for fruit nectar of an exotic passion fruit, which samples were prepared with less sugar (4.5%) than commonly used in the nectars (10%-11%)(Ventura *et al.*, 2011; Catteau *et al.*, 2012). These results are in agreement with Pohjanheimo e Sandell (2009) who noticed that consumers who considered health, natural content and ethicality as important factors in their food choices and consumers concerned about their health considered functional yoghurts more pleasant (Pohjanheimo e Sandell, 2009). On the other hand, Cluster 2 presented lower proportion of consumers with high level of attitude

knowledge, behavior and acceptance for functional foods. Despite of the possible health effects, Cluster 2 may not intend to choose healthiness over product flavor.

4.4. CONCLUSION

Considering results from the present study, the training system had effect on pH, titratable acidity and total soluble solids content of *Passiflora setacea* pulp, and trellis nectars had lower pH and higher TSS. With regard to season effect, pH value was lower in the dry season. Total phenolics compounds and condensed tannins were lower in trellis (shaded) samples, probably in response to restriction to UV radiation.

Passiflora setacea nectars presented very small differences in consumers' liking scores. Training system or season factors did not affect consumers' acceptance as isolated factors. However, there was an interaction within them, and ED and TR overall liking were significantly higher than ER.

The hierarchical cluster analysis identified two groups of consumers. It was observed that the acceptance means of the Cluster 1 were significantly higher than those of Cluster 2.

Considering CATA descriptive analysis, our results suggest that training system and season of *P. setacea* plantation did not influence flavor or aroma of *P. setacea* nectars. However, penalty analysis allowed us to conclude that clusters had different preferences to attributes. Cluster 2 presented "sweet taste" and "sweet aroma" as driver of liking and "acid taste" as driver of disliking whereas cluster 1 did not present drivers of disliking, which reinforces the importance of the use of CATA in this study.

Consumer's age, gender, education level, frequency of consumption of passion fruit and frequency of consumption of functional products did not direct products acceptance, whereas the neophilic behavior or the higher level of knowledge

and acceptance about functional foods favored a better acceptance samples.

Therefore, the results indicate that when developing functional beverages, it is necessary to study the influence of non-sensory attributes, such as consumers' behavior and health claims information, in order to increase consumption and also connections between consumers, farmers and food industry.

Acknowledgements

To Embrapa Cerrados, CNPq and IFB for the financial support.

4.5. REFERENCES

- A.O.A.C., A. o. O. A. C. (2006). *Official methods of the AOAC*. . Washington, DC. : Association of Official Analytical Chemist.
- Almeida, D. F. L. S. (2017). Estudo das Vias Metabólicas das Plantas na Síntese de Pigmentos Naturais. In U. F. Pessoa. Porto, Portugal.
- Annunziata, A., & Vecchio, R. (2013). Consumer perception of functional foods: A conjoint analysis with probiotics. *Food Quality and Preference*, 28(1), 348-355.
- Antúnez, L., Vidal, L., de Saldamando, L., Giménez, A., & Ares, G. (2017). Comparison of consumer-based methodologies for sensory characterization: Case study with four sample sets of powdered drinks. *Food Quality and Preference*, 56, 149-163.
- Ares, G., Dauber, C., Fernández, E., Giménez, A., & Varela, P. (2014). Penalty analysis based on CATA questions to identify drivers of liking and directions for product reformulation. *Food Quality and Preference*, 32, 65-76.
- Ares, G., & Gambaro, A. (2007). Influence of gender, age and motives underlying food choice on perceived healthiness and willingness to try functional foods. *Appetite*, 49(1), 148-158.
- Ares, G., Giménez, A., & Deliza, R. (2010). Influence of three non-sensory factors on consumer choice of functional yogurts over regular ones. *Food Quality and Preference*, 21, 6.
- Ares, G., & Jaeger, S. (2014). Check-all-that-apply (CATA) questions with consumers in practice. Experimental considerations and impact on outcome. *Rapid sensory profiling techniques: Applications in new product development and consumer research*, 227-245.
- Ares, G., & Jaeger, S. R. (2015). Examination of sensory product characterization bias when check-all-that-apply (CATA) questions are used concurrently with hedonic assessments. *Food Quality and Preference*, 40, 199-208.
- Ares, G., Tarrega, A., Izquierdo, L., & Jaeger, S. R. (2014). Investigation of the number of consumers necessary to obtain stable sample and descriptor configurations from check-all-that-apply (CATA) questions. *Food Quality and Preference*, 31, 31, 135-141.
- Ares, G., Varela, P., Rado, G., & Giménez, A. (2011). Are consumer profiling techniques equivalent for some product categories? The case of orange-flavoured powdered drinks. *International Journal of Food Science & Technology*, 46(8), 1600-1608.
- Ataíde, E., Oiveira, J., & Ruiggeiro, C. (2012). Florescimento e frutificação do maracujazeiro silvestre *Passiflora setacea* d. C. cultivado em jaboticabal, sp. *Revista Brasileira Fruticultura*, 34(2), 5.
- Bomtempo, L., Costa, A. M., Lima, H., Engeseth, N., & Gloria, M. (2016). Bioactive amines in *Passiflora* are affected by species and fruit development. *Food Res Int*, 89(1), 5.
- BournePartners. (2017). Nutraceuical Sector Report. In: <http://bournepartners.com/research/sector-reports/38/nutraceutical-sector-report>.
- Braidot, E., Zancani, M., Petrusa, E., Peresson, C., Bertolini, A., Patui, S., et al. (2008). Transport and accumulation of flavonoids in grapevine (*Vitis vinifera* L.). *Plant signaling & behavior*, 3(9), 626-632.
- Bugaud, C., Daribo, M. O., & Dubois, C. (2007). Climatic conditions affect the texture and colour of Cavendish bananas (Grande Naine cultivar). *Scientia Horticulturae*, 113, 238-243.
- Bui, D. (2015). Consumer Acceptance of Functional Foods in Ho Chi Minh City. *Eurasian Journal of Business and Economics*, 8(16), 16.
- Castellarin, S., Pfeiffer, A., Sivilotti, P., Degan, M., Peterlunger, E., & Di Gaspero, G. (2017). Transcriptional regulation of anthocyanin biosynthesis in ripening fruits of grapevine under seasonal water deficit. *Plant, Cell & Environment*, 30(11), 1381-1399.
- Castro-Vázquez, L., Días-Maroto, M., de Torres, C., & Pérez-Coello, M. (2010). Effect of

- geographical origin on the chemical and sensory characteristics of chestnut honeys. *Food Res Int*, 43, 5.
- Catteau, C., Trentesaux, T., Delfosse, C., & Rousset, M.-M. (2012). Impact des jus de fruits et des boissons fruitées sur la santé de l'enfant et de l'adolescent: le point de vue du chirurgien dentiste. *Archives de pédiatrie*, 19(2), 118-124.
- Corso, P. B., M. (2012). Tradução e validação para a língua portuguesa de questionário sobre fatores cognitivos e comportamentais que afetam a aceitação de alimentos funcionais. *Alim. Nutr., Araraquara.*, 23(1), 6.
- Del Giudice, T., & Pascucci, S. (2010). The Role of Consumer Acceptance in the Food Innovation Process: Young Consumer Perception of Functional Food in Italy. *Int. J. Food System Dynamics*, 2, 11.
- Domingos, S., Nobrega, H., Raposo, A., Xardoso, V., Soares, I., Ramalho, J., et al. (2016). Light management and gibberellic acid spraying as thinning methods in seedless table grapes (*Vitis vinifera* L.): Cultivar responses and effects on the fruit quality. *Scientia Horticulturae* 201 (2016) 68–77, 201, 10.
- Embrapa Cerrados. (2015). Cultivar de maracujazeiro silvestre com quádrupla aptidão: consumo in natura, processamento industrial, ornamental e funcional. In D. t. d. p. s. PASSITEC”.
- Fedrizzi, B., Guella, G., Perenzoni, D., Gasperotti, M., Masuero, D., Vrhovsek, U., et al. (2012). Identification of intermediates involved in the biosynthetic pathway of 3-mercaptohexan-1-ol conjugates in yellow passion fruit (*Passiflora edulis* f. *flavicarpa*). *Phytochemistry*, 77, 287-293.
- Friedel, M., Stoll, M., Patz, C., Will, F., & Dietrich, H. (2015). Impact of light exposure on fruit composition of white 'Riesling' grape berries (*Vitis vinifera* L.). *Vitis*, 54(3), 9.
- Gama, V., Cunha, J., Lima, I., Bacarin, M., & Silva, D. (2013). Photosynthetic characteristics and quality of five passion fruit varieties under field conditions. *Acta Physiol Plant*, 35, 8.
- Giacalone, D., Bredie, W., & Frøst, M. (2013). “All-In-One Test” (AI1): A rapid and easily applicable approach to consumer product testing. . *Food Quality and Preference*, 27, 11.
- Gregan, S., Wargent, J. J., Liu, L., Shinkle, J., Hofmann, R., Winefield, C., et al. (2012). Effects of solar ultraviolet radiation and canopy manipulation on the biochemical composition of Sauvignon Blanc grapes. *Australian Journal of Grape and Wine Research*, 18, 11.
- Guimarães, t. G., Dianese, a. C., Madalena, j. O. M., Faleiro, f. G., Junqueira, n. T. V., Lima, h. C., et al. (2013). Recomendações técnicas para o cultivo de *Passiflora setacea* cv. BRS Pérola do Cerrado. . In Embrapa.
- He, J., & Giusti, M. M. (2010). Anthocyanins: natural colorants with health-promoting properties. *Annual review of food science and technology*, 1, 163-187.
- Heim, K. E., Tagliaferro, A. R., & Bobilya, D. J. (2002). Flavonoid antioxidants: chemistry, metabolism and structure-activity relationships. *J Nutr Biochem*, 13(10), 572-584.
- Henriques, A., King, S., & Meiselman, L. (2009). Consumer segmentation based on food neophobia and its application to product development. *Food Quality and Preference*, 20 9.
- Janick, J., & Paull, R. (2008). *The Encyclopedia of Fruit and Nuts*. Cambridge, MA.
- Kelly, G. (1955). *The Psychology of Personal Constructs*. New York: W. W. Norton & Company Inc.
- Komuro, L. (2008). Efeitos de sistemas de condução sobre o crescimento, produção, qualidade dos frutos e custos de instalação de maracujazeiro amarelo (*Passiflora edulis* Sims, f. *flavicarpa* Deg). In U. E. Paulista. SP
- Laaksonen, O., Knaapila, A., Niva, T., Deegan, K., & Sandell, M. (2016). Sensory properties

- and consumer characteristics contributing to liking of berries. *Food Quality and Preference*, 53, 9.
- Laaksonen, O. A., Mäkilä, L., Sandell, M. A., Salminen, J.-P., Liu, P., Kallio, H. P., et al. (2014). Chemical-sensory characteristics and consumer responses of blackcurrant juices produced by different industrial processes. *Food and bioprocess technology*, 7(10), 2877-2888.
- Lado, J., Vicente, E., Manzoni, A., & Ares, G. (2010). Application of a check-all-that-apply question for the evaluation of strawberry cultivars from a breeding program. *J Sci Food Agric*, 90(13), 2268-2275.
- Lähteenmäki, L. (2013). Claiming health in food products. *Food Quality and Preference*, 27(2), 196-201.
- Lambers, H., Chapin III, S., & Pons, T. (2008). *Plant Physiological Ecology*. New York: Springer-Verlag
- Larrauri, J. A., Rupérez, P., & Saura-Calixto, F. (1997). Effect of drying temperature on the stability of polyphenols and antioxidant activity of red grape pomace peels. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 45(4), 3.
- Lawless, H., & Heymann, H. (2010). *Sensory evaluation of food: principles and practices*. . New York: Springer-Verlag.
- Lee, Y., Findlay, C., & Meullenet, J. F. (2012). Experimental consideration for the use of check-all-that-apply questions to describe the sensory properties of orange juices. *International Journal of Food Science and Technology*, 48, 5.
- Lessa, A. (2011). Determinação do teor de compostos fitoquímicos e estudo do potencial para processamento da polpa de frutos de maracujá das espécies silvestres (*Passiflora setacea* DC, *Passiflora cincinnata* MAST). . In U. E. d. S. d. Bahia.
- Lim, H., Yeo, E., Song, E., Chang, Y., Han, B., Choi, H., et al. (2015). Bioconversion of Citrus unshiu peel extracts with cytolase suppresses adipogenic activity in 3T3-L1 cells. *Nutrition research and practice*, 9(6), 599-605.
- Meletti, L. M. (2011). Avanços na cultura do maracujá no Brasil. *Revista Brasileira de Fruticultura*, 33(SPE1), 83-91.
- Mustonen, S., Oerlemans, P., & Tourila, H. (2012). Familiarity with and affective responses to foods in 8-11-year-old children. The role of food neophobia and parental education. *Appetite*, 58(3), 3.
- Petrussa, E., Braidot, E., Zancani, M., Peresson, C., Bertolini, A., Patui, S., et al. (2013). Plant flavonoids—biosynthesis, transport and involvement in stress responses. *Int J Mol Sci*, 14(7), 14950-14973.
- Pineli, L., Aguiar, L., Fiusa, A., Botelho, R., Zandonadi, R., & Melo, M. (2016). Sensory impact of lowering sugar content in orange nectars to design healthier, low-sugar industrialized beverages. *Appetite*, 96, 5.
- Plaehn, D. (2012). CATA penalty/reward. *Food Quality and Preference*, 24(1), 141-152.
- Pliner, P., & Hobden, K. (1992). Development of a scale to measure the trait of food neophobia in humans. *Appetite*, 19(2), 105-120.
- Pohjanheimo, T., & Sandell, M. (2009). Explaining the liking for drinking yoghurt: The role of sensory quality, food choice motives, health concern and product information. *International Dairy Journal*, 19, 7.
- Prior, R. L., Fan, E., Ji, H., Howell, A., Nio, C., Payne, M. J., et al. (2010). Multi-laboratory validation of a standard method for quantifying proanthocyanidins in cranberry powders. *J Sci Food Agric*, 90(9), 1473-1478.
- Raffo, A., La Malfa, G., Fogliano, V., Maiani, G., & Quaglia, G. (2006). Seasonal variations in antioxidant components of cherry tomatoes (*Lycopersicon esculentum* cv. Naomi F1). *Journal of Food Composition and Analysis*, 19, 8.

- Rani Das, M., Hossain, T., Baset Mia, M., Ahmed, J., Sirajul Karim, A., & Mofazzal Hossain, M. (2013). Fruit Setting Behaviour of Passion Fruit. *American Journal of Plant Sciences*, 4, 8.
- Ristic, R., Downey, M., Iland, P., Bindon, K., Fracis, I., Herderich, M., et al. (2007). Exclusion of sunlight from Shiraz grapes alters wine colour, tannin and sensory properties. *Australian Journal of Grape and Wine Research*, 13, 12.
- Rocha, I. F., & Bolini, H. M. (2015). Passion fruit juice with different sweeteners: sensory profile by descriptive analysis and acceptance. *Food Sci Nutr*, 3(2), 129-139.
- Rodrigues, J. S. Q., Pineli, L., Rodrigues, N., Lima, H., Costa, A. M., Silva, C. H. S., et al. (2013). Qualidade sensorial de néctares de maracujás BRS Ouro Vermelho produzidos em diferentes sistemas de cultivo. *Revista Ceres*, 60, 7.
- Sanchez-Rodriguez, E., Ruiz, J. M., Ferreres, F., & Moreno, D. A. (2011). Phenolic metabolism in grafted versus nongrafted cherry tomatoes under the influence of water stress. *J Agric Food Chem*, 59(16), 8839-8846.
- Silva, F., Evangelista, B., & Malaquias, J. (2014). *Normal climatológica de 1974 a 2003 da estação principal da Embrapa Cerrados* Planaltina, DF, Brazil.: Embrapa Cerrados.
- Singleton, V. L., & Rossi, J. A. (1965). Colorimetry of Total Phenolics with Phosphomolybdic-Phosphotungstic Acid Reagents. *American Journal of Enology and Viticulture*, 16(3), 144-158.
- Siro, I., Kápolna, E., Kápolna, B., & Lugasi, A. (2008). Functional food. Product development, marketing and consumer acceptance—A review. *Appetite*, 51(3), 456-467.
- Szakaly, Z., Szente, V., Kover, G., Polereczki, Z., & Szigeti, O. (2012). The influence of lifestyle on health behavior and preference for functional foods. *Appetite*, 58(1), 406-413.
- Tilahun, S., Park, D., Seo, M., & Jeong, C. (2017). Review on factors affecting the quality and antioxidant properties of tomatoes. *African Journal of Biotechnology*, 16(32), 1678-1687.
- Troszyńska, A., Estrella, I., Lamparski, G., Hernández, T., Amarowicz, R., & Pegg, R. (2011). Relationship between the sensory quality of lentil (*Lens culinaris*) sprouts and their phenolic constituents. *Food Res Int*, 44(10), 6.
- Ventura, E. E., Davis, J. N., & Goran, M. I. (2011). Sugar content of popular sweetened beverages based on objective laboratory analysis: focus on fructose content. *Obesity*, 19(4), 868-874.
- Verbeke, W. (2005). Consumer acceptance of functional foods: socio-demographic, cognitive and attitudinal determinants. *Food Quality and Preference*, 16, 12.
- Vidal, L., Tárrega, A., Antúnez, L., Ares, G., & Jaeger, S. (2015). Comparison of Correspondence Analysis based on Hellinger and chi-square distances to obtain sensory spaces from check-all-that-apply (CATA) questions. *Food Quality and Preference*, 45, 6.
- WHO, W. H. O. (2015). Guideline: sugars intake for adults and children. In W. H. Organization. Geneva.
- Zervoudakis, G., Salahas, G., Kaspiris, G., & Konstantopoulou, E. (2012). Influence of Light Intensity on Growth and Physiological Characteristics of Common Sage (*Salvia officinalis* L.) *Brazilian archives of biology and technology*, 55(1), 6.
- Zhang, S., Hu, J., Zhang, C. F., Guan, Y. J., & Zhang, Y. (2007). Genetic analysis of fruit shape traits at different maturation stages in sponge gourd. *J Zhejiang Univ Sci B*, 8(5), 338-344.
- Zoratti, L., Karppinen, K., Luengo Escobar, A., Häggman, H., & Jaakola, L. (2014). Light-controlled flavonoid biosynthesis in fruits. *Frontiers in plant science*, 5, 534.

CAPÍTULO 5 - CONSIDERAÇÕES FINAIS

Atualmente há uma tendência de maior preocupação com a saúde e prevenção de doenças a partir de uma boa alimentação. A indústria alimentícia tem focado não apenas o apelo sensorial, mas também a melhoria da qualidade de vida dos consumidores através de uma alimentação saudável e que proporcione a prevenção de doenças através do consumo de compostos bioativos, cujas evidências científicas apontam para efeitos benéficos à saúde, associados à sua capacidade antioxidante. A necessidade da obtenção de alimentos que proporcionem prevenção de doenças, além de fonte de nutrientes importantes à boa alimentação, torna as espécies silvestres de maracujá como a *Passiflora setacea* atrativa para o mercado de sucos concentrados demonstrando a relevância da polpa da fruta, que pode ser considerada uma boa fonte de compostos bioativos, com destaque ao conteúdo médio de compostos fenólicos e taninos condensados e carotenoides.

Considerando o efeito dos sistemas de condução no conteúdo de compostos bioativos, as concentrações de fenólicos totais, taninos condensados, flavonoides totais e atividade antioxidante (pelos métodos DPPH e FRAP) não foram influenciadas pelo sistema de condução, não havendo diferenças significativas entre os tratamentos latada ou espaladeira. Já carotenoides e vitamina C, apresentaram diferença significativa, com médias significativamente maiores no sistema espaladeira, o que pode estar relacionado à maior exposição do fruto à luz solar.

Com relação ao efeito das condições climáticas dos períodos de seca e chuva, observou-se que houve diferença significativa entre os períodos secos e chuvosos nas concentrações de flavonoides totais, orientina, isovitexina e hesperetina e também uma maior atividade antioxidante pelo método FRAP.

Cinco flavonoides (orientina, isoorientina, vitexina, isovitexina e hesperetina) foram quantificados em polpas de *Passiflora setacea* por meio de cromatografia líquida de alta eficiência acoplada a detector de arranjo de diodos (HPLC-DAD). Os conteúdos de orientina e isovitexina foram superiores aos do açaí, conhecidamente uma boa fonte de flavonoides. A concentração de isovitexina foi semelhante ou superior a outras espécies de *Passifloras*. A hesperetina se destacou como o flavonoide mais abundante em polpa de *P. setacea*, com concentrações superiores à alguns frutos cítricos.

Os teores desses compostos não foram alterados com o sistema de condução. Entretanto, em relação às estações climáticas, semelhante à concentração de flavonoides totais, observou-se maiores valores médios de orientina, isovitexina e hesperetina no período chuvoso do ano 2, caracterizada por maior umidade e menor exposição solar, diferindo significativamente da chuva do ano 1.

Ainda em relação às diferenças entre os sistemas de condução e as estações do ano, com relação ao perfil sensorial de refrescos preparados com polpas de *P. setacea*, os resultados sugerem que o sistema de condução não influenciou o sabor ou o aroma das polpas. As estações seca ou chuvosa influenciaram os atributos de cor e "presença de partículas" dos refrescos. No entanto, de um modo geral, a estação do ano não apresentou efeito significativo sobre o sabor, indicando uma boa estabilidade da polpa de *P. setacea* durante a colheita anual.

Quanto à aceitação, os refrescos preparados com polpa de *P. setacea* apresentaram uma boa aceitabilidade, quando comparado a outros estudos. Na análise hierárquica de clusters, observaram-se maiores médias de aceitação para o cluster cujos consumidores apresentavam comportamento neofílico, ou seja, uma

maior abertura a provar novos produtos. Este grupo de avaliadores também apresentou um maior nível de conhecimento sobre alimentos funcionais.

A partir dos dados de aceitação global e sugere-se que o agricultor pode usar o sistema de condução que melhor lhe convir, uma vez que a diferença entre sistemas de condução ou estações do ano foi pequena.

O consumo de frutas e hortaliças está associado positivamente a saúde e a presença dos antioxidantes. Dessa forma, são cada vez mais necessários estudos que identifiquem e quantifiquem compostos bioativos com atividade antioxidante, bem como seus mecanismos de ação. Também são importantes a realização de pesquisas no sentido de estabelecer a eficiência de absorção no trato gastrointestinal, a biodisponibilidade, o mecanismo de ação e as recomendações desses compostos para consumo humano.

Com base nos resultados aqui expostos, sugere-se que a polpa de *P. setacea* deve ser consumida naturalmente para uma vida saudável como boa fonte de componentes antioxidantes, com boa estabilidade do conteúdo de fotoquímicos durante a colheita, independentemente do sistema de condução e a estação do ano. Considerando o mercado de bebidas funcionais, o néctar de *Passiflora setacea* possui um horizonte promissor, sendo necessária a realização de outros estudos que considerem a influência de atributos não sensoriais na aceitação, como o comportamento do consumidor e o uso de embalagens com alegações de propriedades funcionais com o objetivo de aumentar sua aceitação e seu consumo; além, é claro, de estudos que avaliem o tratamento térmico adequado para prolongar sua vida de prateleira, considerando as características microbiológicas e físico-químicas exigidas pela indústria.

ANEXOS

Anexo 1- CROQUI DO EXPERIMENTO

EXPERIMENTO CONDUÇÃO ESPALDEIRA X LATADA – *P. SETACEA* BRS Pérola do Cerrado (FRUTICULTURA)

ÁREA FRUTICULTURA – GPS: 15°36'13.02"S; 47°43'17.34" O.

Semeadura (dez/12):

Plantio:

	ESPALDEIRA	LATADA
Número planta na linha	8	8
Número de linhas	5	5
Número de repetições	5	5
Espaçamento entre linhas	3m	3 m
Espaçamento entre plantas	5m	5 m

CROQUI EXPERIMENTO

● *Passiflora setacea* conduzida em Espaldeira (E)

● *Passiflora setacea* conduzida em latada (L)

▼▲ Área da coleta



Anexo 2- DETERMINAÇÃO DE PH EM POLPAS DE FRUTAS

Fonte: A.O.A.C. (2006). Official methods of the AOAC. Washington, DC. Association of Official Analytical Chemist.

Material

PHmetro;

Água destilada;

Soluções de calibração.

DETERMINAÇÃO DE PH DAS AMOSTRAS

Ligar o pHmetro;

Antes do uso, retirar o(s) eletrodo(s) da solução de manutenção em que está imerso (que varia conforme tipo de eletrodo) e lavá-lo(s) com água destilada, absorvendo o excesso de água com um papel absorvente macio;

Agitar levemente a amostra, que deverá estar contida num recipiente adequado para facilitar a leitura;

Introduzir o(s) eletrodo(s) na amostra e, estabelecido o equilíbrio, fazer a leitura do pH, que é feita diretamente no visor do aparelho;

Lavar o(s) eletrodo(s) com água destilada e enxugá-lo(s) com papel absorvente macio;

Os eletrodos devem ser mantidos imersos em solução (cuja composição depende do tipo de eletrodo) após o uso.

Anexo 3- DETERMINAÇÃO DE ACIDEZ TOTAL TITULAVEL EM POLPAS DE FRUTA

Fonte: A.O.A.C. (2006). Official methods of the AOAC. Washington, DC. Association of Official Analytical Chemist.

Material

Fenolftaleína 1%;
NaOH 0,2N;
Erlenmeyer de 100mL;
Agitador magnético;
Bastão magnético;
Bureta.

DETERMINAÇÃO DE ACIDEZ TOTAL

Diluir 2mL da amostra de polpa completando o volume para 50mL com água destilada e transferir essa solução para um erlenmyer, adicionando um bastão magnético e 3 gotas de solução fenolftaleína, que irá atuar como indicador;
Colocar a solução de hidróxido de sódio de concentração 0,1N no interior de uma bureta e fazer o nível dessa solução coincidir com o zero da bureta;
Ligar o agitador magnético com o erlenmeyer sobre o mesmo;
Gotejar a solução de hidróxido de sódio no interior do erlenmyer, sob agitação continua;
À medida que a solução de hidróxido de sódio vai sendo introduzida no erlenmyer, a solução vai mudando de cor;
O gotejamento deve ser lento, até o momento em que ocorra o “ponto de viragem”, ou seja, a mudança de cor ocorrerá e a solução ficará rosa claro.

CÁLCULOS

O cálculo da acidez total titulável é feito de acordo com a seguinte fórmula:

ATT = (V.N.100/P).meq, onde:

ATT: porcentagem da acidez titulável em ácido cítrico (%)

V: volume da solução de NaOH gasto (mL)

N: normalidade da solução de NaOH

P: peso (g) ou volume (mL) de cada amostra inicial

Meq: miliequivalente ácido cítrico

Anexo 4- DETERMINAÇÃO DE SÓLIDOS SOLÚVEIS TOTAIS EM POLPAS DE FRUTAS

Fonte: A.O.A.C. (2006). Official methods of the AOAC. Washington, DC. Association of Official Analytical Chemist.

Material

Refratômetro;

Pisseta com água destilada;

Béquer;

Lenço de papel;

Pipeta de Pasteur.

DETERMINAÇÃO DE BRUX DAS AMOSTRAS

A calibração do aparelho deverá ser feito com água destilada anteriormente o procedimento experimental.

Colocar algumas gotas da amostra no visor do refratômetro;

Observar a escala sendo que o ponto de leitura é o divisor de cores (Branco/azul);

A leitura é direta;

Limpar o refratômetro com água destilada e secá-lo com o lenço de papel.

Anexo 5- DETERMINAÇÃO DE CAROTENOIDES TOTAIS

Fonte: RODRIGUEZ-AMAYA, D.B. A Guide To Carotenoid Analysis In Food. Washington, D C: Internacional life Sciense Instituto Press, 2001. 64 p.

Material

Almofariz completo;

Funil de Büchner;

Papel de filtro;

Papel alumínio;

Kitasato de 500 mL;

Funil de separação de 500 mL;

Éter de petróleo;

Água destilada;

Balão volumétrico de 25 mL;

Sulfato de sódio anidro;

Lã de vidro;

Bequer;

Pipeta de 1 mL;

Ponteiras (1000 µL);

Cubetas;

Espectrofotômetro.

PROCEDIMENTO EXPERIMENTAL DE EXTRAÇÃO

Determinação de Carotenoides Totais:

Pesar 1 g da amostra liofilizada e triturada (pode pesar as 3 amostras da mesma hortaliça e tempo de cocção ao mesmo tempo) em um pedaço de papel alumínio;

Pesar 7,5 g de sulfato de sódio anidro (3 vezes) em um pedaço de papel alumínio;

Colocar cada uma em um almofariz (se tiver 3 almofarizes, se não, fazer esse procedimento para cada amostra e lavar e secar o almofariz);

Acrescentar 25 mL de acetona gelada (10°C);

Macerar e homogeneizar por um minuto;

Ajustar o papel filtro no funil de Büchner;

Ajustar o funil de Büchner em um Kitsato de 500 mL;

Ajustar o tubo do compressor no Kitsato;

Colocar o extrato no funil de Büchner;

Ligar o compressor;

Acrescentar aos poucos mais acetona (cerca de mais 25 mL) para extrair toda a cor do resíduo. Ao final, lavar o almofariz, o resíduo e o funil com mais acetona, recolhendo tudo no Kitsato;

Desligar o compressor e o tubo que está preso ao Kitsato;

Colocar cuidadosamente 20 mL de éter de petróleo no funil de separação;

Transferir cuidadosamente o conteúdo do Kitsato para o funil de separação (inclinando o funil de separação para que o líquido escorra por suas paredes);

Lavar o Kitsato com mais acetona e colocar no funil de separação, adotando os mesmos cuidados anteriores;

Acrescentar a água destilada – 150 mL – fazendo com que escorra lentamente pela parede do funil de separação para não formar emulsão;

Deixar descansar até que ocorra a separação de fases (1-2 minutos);

Após a separação das fases, abrir o registro do Funil de separação, com abertura mínima, de forma que a água que está na parte inferior escorra lentamente. Deixar cerca de 2 cm de água na parte inferior nas primeira e segunda lavagens;

Acrescentar novamente 150 mL de água e proceder da mesma forma;

Acrescentar novamente 150 mL de água e, desta vez, deixar escorrer toda a água, tomando cuidado para que não se perca nada da solução;

Secar a saída do funil com papel toalha para evitar que a água ali existente se misture à fase etérea (solução que está com o éter);

Transferir a solução para um balão volumétrico recoberto com papel alumínio;

Ajustar um funil de vidro em um balão volumétrico de 25 mL recoberto com papel alumínio;

Cuidadosamente, com pinça, colocar lã de vidro dentro do funil de vidro;

Colocar 7,5 g de sulfato de sódio anidro sobre a lã de vidro (vai retirar a água residual);

Filtrar a solução;

Lavar o balão volumétrico e o funil com mais um pouco de éter de petróleo.

Completar o volume do balão com éter de petróleo;

Transferir parte do conteúdo do balão (ou todo) para um béquer;

Com uma pipeta de 1mL, transferir a solução para uma cubeta do espectrofotômetro;

Calibrar o espectrofotômetro para o comprimento de onda que deseja a leitura (β -caroteno: 450 nm) ou para um espectro de comprimento de ondas (Carotenóides: 380 a 680 nm). O “branco” é o éter.

CÁLCULOS

Cálculo da concentração de carotenoides totais em equivalentes de beta-caroteno:

Para o cálculo deve ser utilizada a seguinte fórmula:

$$Ct (\mu\text{g} /\text{g}) = \frac{A \times V \times 10^4}{E^{1\%}_{1\text{cm}} \times m}$$

A = absorvância no pico máximo de absorção

V = volume final da amostra (mL)

m = massa da amostra (g)

$E^{1\%}_{1\text{cm}}$ = coeficiente de extinção (β -caroteno = 2592 em éter de petróleo Isler *et al.*, 1956).

Anexo 6- DETERMINAÇÃO DE VITAMINA C

(Metodologia previamente otimizada no laboratório)

Fonte: CAMPOS, F.M.; CHAVES, J.B.P.; DE AZEREDO, R.M.C.; OLIVEIRA, D.S.; PINHEIRO SANT'ANA, H.M.. Handling Practices to Control Ascorbic Acid and b-Carotene Losses in Collards (Brassica oleracea). Food Sci Tech Int, v. 15, n. 5, p. 445-452, 2009.

MATERIAL

pHâmetro

Balões de 1000 mL

Centrífuga

Agitador

Balões volumétricos de 25 mL

Falcons de 15 mL

Tubos de ensaio âmbar

Pipetas automáticas com ponteiros (1mL, 10mL)

Vial (dois pra cada amostra)

Unidade filtrante HV millex, em polietileno, poro de 0,45 µm

HPLC

REAGENTES

Solução H₂SO₄ 0,4 mol/L 90% (vol = 200 mL)

Adicionar 40 mL de água miliQ em um balão volumétrico de 200 mL imerso em banho de gelo. Sobre a água, adicionar 1,22 mL de H₂SO₄ (pipeta de vidro) e completar o volume com água MiliQ.

Solução extratora: ácido metafosfórico (AMP) 3% + ácido acético 8% + ácido sulfúrico 0,3 N + EDTA 1 mM + H₂SO₄ 90% (vol = 2000 mL)

Para 1000 mL de solução, proceder da seguinte forma:

AMP: dissolver 30 g de AMP em cerca de 200 mL de água ultrapura.

EDTA: dissolver 0,404 g de EDTA em de 100 mL de água ultrapura.

Medir 80 mL de **ácido acético** em proveta de 100 mL.

Transferir quantitativamente o AMP e o EDTA dissolvidos, para o balão contendo ácido acético.

Adicional aproximadamente 1 L de água milliQ.

Adicionar o ácido acético previamente medido.

Adicionar lentamente 8 mL de H₂SO₄ 90% ao mesmo balão volumétrico.

Completar o volume do balão volumétrico (2 L) com água ultrapura.

Filtrar com funil de papel, transferindo para um vidro âmbar devidamente identificado.

Fase móvel: NaH₂PO₄ 1 mM + EDTA 1 mM, com pH ajustado para 3,0 com H₃PO₄.
(vol = 200 0mL)

Pesar 0,2759 g de NaH₂PO₄, Diluir em água ultrapura, transferir o conteúdo quantitativamente para balão volumétrico de 100 mL e completar o volume com água ultrapura.

Dissolver 0,8089 g de EDTA em água ultrapura, transferir o conteúdo quantitativamente para balão volumétrico de 100 mL e completar o volume com água ultrapura.

Transferir o conteúdo dos dois balões para um balão volumétrico de 2 L.

Ajustar pH para 3.0 utilizando ácido fosfórico.

Filtrar com funil de papel, transferindo para um vidro âmbar devidamente identificado.

- **Solução Trizma 0,5 mol/L (pH9,0) com DTT com 40 mmol/L (vol = 1 L)**

- Massa molar DTT = 154,253 g/mol
- Massa molar Trizma= 121,14 g/mol
- Pesar 60,57 g de Trizma (Sigma T1503) e diluir em cerca de 400 mL de água MiliQ sob constante agitação. Se necessário, usar ultrassom.
- Pesar 6,1701 g de DTT e diluir em cerca de 50mL de água MiliQ.
- Transferir as duas soluções para um balão volumétrico de 1L. Completar o volume para 1.000 mL com água Milli-Q.
- Ajustar o pH com **HCl ou NaOH**. Ajustar pH final para 9,0.
- Filtrar com funil de papel, transferindo para um vidro âmbar devidamente identificado.

PREPARO DO EXTRATO

Todos os procedimentos envolvidos no preparo do extrato devem ser realizados ao abrigo da luz (envolver as vidrarias em papel alumínio) e em banho de gelo.

Pesar de 3 a 5 g de amostra *in natura* ou 2,0 g de amostra liofilizada em um tubo falcon de 15 mL.

Homogeneizá-la com 10 mL da solução extratora, por 5 minutos em velocidade média.

Centrifugar a 5.000 rpm por 15 minutos.

Coletar o sobrenadante e colocá-lo em balão volumétrico de 25 mL.

Adicionar 10 mL de água mili-Q ao resíduo de amostra do falcon e homogeneizar por 5 minutos em velocidade média.

Centrifugar a 5.000 rpm por 15 minutos.

Coletar o sobrenadante, juntá-lo ao sobrenadante da primeira extração em balão volumétrico de 25 mL.

Completar o volume do balão com água mili-Q.

Filtrar o extrato para um vial utilizando unidade filtrante HV millex. Armazená-lo a 5°C até o momento da análise cromatográfica, a ser realizada no mesmo dia.

CONVERSÃO DE ÁCIDO DEHIDROASCÓRBICO EM ÁCIDO ASCÓRBICO

Pipetar 1 mL de extrato em frasco âmbar.

Adicionar 1 mL de solução tampão Trizma 0,5 M (pH 9,0), contendo DTT 40 mM;

Incubar por 15 minutos à temperatura ambiente e ao abrigo da luz;

Adicionar 0,5 mL de H₂SO₄ 0,4 M;

Filtrar em unidade filtrante HV millex para vial previamente identificado.

A quantificação de DHA será realizada pela diferença do conteúdo de AA total (após a conversão do DHA em AA) e do conteúdo de AA (antes da conversão do DHA).

CURVA-PADRÃO

Solução estoque de ácido ascórbico

Preparar uma solução estoque de ácido ascórbico (AA) na concentração de 1 mg/mL.

Diluir o AA em água ultrapura.

A partir da solução estoque, preparar diferentes concentrações (em torno de 6), a partir da mistura da solução estoque com a solução extratora.

Filtrar as soluções em unidade filtrante HV millex, em polietileno, poro de 0,45 µm.

Para a construção da curva-padrão, utilizar as diluições indicadas na **Tabela de diluições a partir da solução estoque de 1mg/mL**. O volume de injeção das diluições será de 30 µL.

Tabela de diluições a partir da solução estoque de 1mg/mL

(usando a fórmula $V_i.C_i = V_f.C_f$, sendo $C_i=1000\mu\text{g/mL}$, $C_f= 50$ a $200\mu\text{g/mL}$ e $V_f = 2,0\text{mL}$, basta achar V_i)

Tabela 1 – Preparação do padrão ácido ascórbico.

Concentração	Volume solução estoque (µL)	Volume solução extratora (µL)	de Volume final (µL)
0	0	2000	2000
6,5	12,5	1987,5	2000
12,5	25	1975	2000
25	50	1950	2000
50	100	1900	2000
75	150	1850	2000
100	200	1800	2000

DETERMINAÇÃO DE ÁCIDO ASCÓRBICO

Fase móvel composta por NaH_2PO_4 1mM + EDTA 1 mM, com pH ajustado para 3,0 com H_3PO_4 .

Fluxo de 1 mL/min em eluição isocrática (mesmo sendo no modo isocrático, ao montar o método no HPLC shimadzu com detector SPD, deve-se indicar que será realizada eluição gradiente e colocar a concentração do solvente B como 100%), com volume de injeção de 15 µL, por 10 minutos.

Detecção realizada a 245 nm.

Separação realizada em coluna Lischospher 100 RP18, 250 nm x 4 mm, 5 µm (Merck, Alemanha).

Lavar coluna previamente com metanol 70%

Após corrida, lavar coluna colocando uma última leitura de vial com água milliQ e fazendo um método de lavagem com metanol 70% de 20 min.

A identificação do AA será realizada por comparação dos tempos de retenção obtidos das amostras com os obtidos para o padrão de AA analisado sob as mesmas condições, bem como com a comparação dos espectros de absorção, empregando-se o detector de arranjos de diodos.

Anexo 7- DETERMINAÇÃO DE FLAVONÓIDES TOTAIS

FONTE: LEES, D.H., FRANCIS, F J. Standardization of pigment analyses in cranberries. HortScience, Alexandria, v.7, n.1, p.83-84, 1972.

MATERIAIS E REAGENTES

Agitador de tubos de ensaio

Homogeneizador turrax

Balança analítica

Balão volumétrico 50 mL, 100 e 200 mL

Becker 50 mL

Cronômetro digital

Cubetas de vidro (4 x 1 cm)

Espectrofotômetro

Proveta de 50 mL

Tubos de 2 mL

REAGENTES

Ácido clorídrico PA.

Água destilada

Álcool etílico P.A.

SOLUÇÕES

Solução de ácido clorídrico 1,5 N

Em um balão volumétrico de 1000 mL, adicionar cerca de 300 mL de água e, em seguida, adicionar 125,4 mL de HCl PA. Completar o volume com água destilada.

Solução de álcool etílico e HCl 1,5 N (85:15, v/v)

Misturar 680 mL de álcool etílico PA com 120 mL de HCl 1,5 N.

PROCEDIMENTO

Pesar de 3 a 20 g de amostra e adicionar 30 mL de solução álcool etílico e HCl 1,5 N (85:15) v/v. Homogeneizar por 1 min e passar para um balão volumétrico de 50 mL. Completar o volume com a mesma solução. Armazenar sob ao abrigo da luz em ambiente refrigerado por um período de 16 h. Em seguida filtrar a amostra e proceder a leitura em espectrofotômetro no comprimento de onda de 374 nm. O aparelho deve ser zerado com a solução álcool etílico e HCl 1,5 N (85:15) v/v.

3.2. Cálculo

Para a determinação de flavanóides:

- comprimento de onda – 374 nm
- fator – 76,6

Supondo ser a determinação para flavanóides

Peso da amostra – 3,27 g

Vol – 50 mL (volume do balão)

Absorbância – 0,235

Fator – 76,6

Fator de diluição (FD) = $\frac{100 \times \text{Vol (mL)}}{\text{Peso (g)}}$

FD = $\frac{100 \times 50}{3,27}$

$$FD = 1529,05$$

$$\text{Flavanóides} = \frac{\text{Abs} \times FD \times \text{Diluição}}{76,6}$$

$$\text{Flavanóides} = \frac{0,235 \times 1529,05 \times 1}{76,6}$$

$$\text{Flavanóides} = 4,69 \text{ mg}/100\text{g}$$

OBS:

Caso necessite fazer diluição das amostras no momento da leitura, ou seja, se a absorbância for maior que 2, deve ser feita com a solução HCl/álcool.

Anexo 8- PREPARO DE EXTRATOS

Fonte: LARRAURI, J.A./ RUPEREZ, P.; SAURA-CALIXTO, F. Effect of drying temperature on the stability of polyphenols and antioxidant activity of red grape pomace peels. J. Agric Food Chem. v.45, p. 1390-1393 (1997).

MATERIAL

Tubos falcon de 15 mL

Tubos falcon de 50mL

Balão volumétrico de 50 mL

Funil de 30 mL

Vidro âmbar de 60 mL

Pipetas automáticas com ponteiros de 10mL

SOLUÇÕES

Solução metanol 50%

Em balão volumétrico de 1 L, adicionar 500 mL de álcool metílico; completar o volume para 1.0 mL com água destilada, homogeneizar e transferir para um frasco de vidro devidamente etiquetado. Armazenar em temperatura ambiente por tempo indeterminado

Solução acetona 70%

Em balão volumétrico de 1 L, adicionar 700 mL de acetona; completar o volume para 1.0 mL com água destilada, homogeneizar e transferir para um frasco de vidro devidamente etiquetado. Armazenar em temperatura ambiente por tempo indeterminado.

PREPARO DE EXTRATOS

Em um falcon de 15 mL, pesar 1,5 g de polpa liofilizada de *Passiflora setacea*.

Adicionar 10 mL de metanol 50% e colocar em ultrassom por 5 minutos.

Homogeneizar em mesa agitadora por 30 minutos e manter em repouso overnight.

No dia seguinte, centrifugar a 4000 rpm por 15 minutos.

Recolher o sobrenadante para um falcon de 50 ml.

Adicionar 10 mL de acetona 70% ao resíduo da primeira extração (no falcon de 15 mL).

Homogeneizar em mesa agitadora por 30 minutos.

Centrifugar a 4.000 rpm por 15 minutos e com recolher o sobrenadante para o falcon de 50 mL.

Repetir a extração com acetona 70% mais duas vezes, totalizando quatro extrações.

Transferir o conteúdo do falcon de 50 mL para um balão volumétrico de 50 mL com auxílio de um funil. Avolumar com água destilada.

Transferir o conteúdo do balão para o vidro âmbar com o auxílio de um funil, filtrando o extrato com lã de vidro.

Manter o extrato congelado até o momento das análises.

Anexo 9- ANÁLISE DE FENÓLICOS TOTAIS

Fonte: Singleton, V. L., & Rossi, J. A. (1965). Colorimetry of total phenolics with phosphomolybdic phosphotungstic acid reagents. American Journal of Enology and Viticulture, 16, 144-158.

MATERIAL

Espectrofotômetro com cubetas

Tubos de ensaio

Pipetas automáticas com ponteiras (100 uL, 1 mL, 10 mL)

Carbonato de sódio 20%

Folin-Ciocateau

Ácido gálico

PREPARO DE SOLUÇÕES

1. Solução de carbonato de sódio a 20%

Pesar em um béquer de 100 mL 20 g de carbonato de sódio. Transferir para um balão de 100 mL com auxílio de 1 funil e de água destilada. Lavar o béquer 3 vezes com pequenas porções da água destilada. Completar o volume. Deixar descansar por 12 horas, filtrar e transferir para um frasco plástico. Armazenar em temperatura ambiente por tempo indeterminado.

2. Folin-Ciocateau 1:3

Em uma proveta, medir 50 mL do reagente Folin Ciocalteau e transferir para um frasco âmbar. Na mesma proveta, medir 150 mL de água destilada e acrescentar no mesmo frasco. Preparar no dia da análise.

Curva Padrão de Ácido gálico

Todos os procedimentos devem ser feitos ao abrigo da Luz.

Pesar 0,01g de ácido gálico. Transferir cuidadosamente para um balão volumétrico de 100 mL. Esta é a solução mãe (100µg/mL). Avolumar com água.

A partir da solução mãe, preparar diluições em triplicatas variando a concentração de 10 a 100 µg/mL.

Concentração (µg/mL)	Solução de ácido gálico (µL)	Água destilada (µL)	Abs média
10	500	4500	0,178
20	1000	4000	0,360
30	1500	3500	0,528
40	2000	3000	0,685
50	2500	2500	0,868
60	3000	2000	1,033
70	3500	1500	1,194
80	4000	1000	1,313

Pipetar em triplicata 1 mL de cada diluição.

Pipetar 1 mL da solução Folin em cada repetição e no branco (1 ml de água destilada)

Incubar por 1 minuto

Adicionar 2,0 mL de carbonato de sódio a 20% e 2 mL de água destilada.

Incubar por 30 minutos a temperatura ambiente ao abrigo da luz.

Ler a absorbância a 700nm usar água destilada como branco.

Plotar em planilha as concentrações de ácido gálico (µg/mL) no eixo X e as respectivas absorbâncias no eixo Y e calcular a equação da reta.

Equação da reta: $y = 0,0164x + 0,03$, $R^2 = 0,998$

Análise de Fenólicos Totais

Diluir a amostra 1:4 (1 mL de extrato + 3 mL de água destilada)

Pipetar em triplicata 1 mL da amostra diluída

Pipetar 1 mL da solução Folin em cada repetição e no branco (1 ml de água destilada)

Incubar por 1 minuto

Adicionar 2,0 mL de carbonato de sódio a 20% e 2 mL de água destilada.

Homogeneizar e incubar por 30 minutos a temperatura ambiente ao abrigo da luz.
Ler a absorbância a 700nm, usando água destilada como branco.

Anexo 10- DETERMINAÇÃO COLORIMÉTRICA DE PROANTOCIANIDINAS PELO MÉTODO DMAC

Fonte: PRIOR, R. L., FAN, E., JI, H., HOWELL, A., NIO, C., PAYNE, M. J., & REED, J. Multi-laboratory validation of a standard method for quantifying proanthocyanidins in cranberry powders. J Sci Food Agric, 90(9), p.1473-1478. 2010.

MATERIAL

Balão volumétrico de 10 ml;

Bequer;

Pipeta de 100 µL;

Pipeta de 1 mL;

Microplaca de poliestireno com 96 cavidades;

Espectrofotômetro de microplaca;

Etanol absoluto;

Padrão antocianidina B2;

DMAC (4-dimethylsminocinnamaldehyde);

HCl

PREPARO DE SOLUÇÃO DMAC (0,1%)

Pesar 50mg de reagente DMAC.

Dissolver completando o volume com etanol em um balão de 50 ml.

Em um vidro ambar, adicionar 37,5ml desta solução com 6,25 ml de água destilada e 6,25 ml de HCl (Adicionar o HCl na capela). Esta é a solução DMAC 0,1% em etanol: água: ácido clorídrico (75: 12,5: 12,5 v/v/v).

PREPARO DOS PADRÕES PARA CURVA PADRÃO

Pesar 1000 µg (1 mg) de proantocianidina B2 e dissolver em etanol em um balão volumétrico de 10ml (esta é a solução mãe).

Fazer as diluições conforme tabela abaixo:

Concentração (Proantocianidina)	Solução de Proantocianidin a (100µg/ml)	Volume de etanol (µL)	Absorbância média
10	200	1800	0,178
20	400	1600	0,360
30	600	1400	0,528
40	800	1200	0,685
50	1000	1000	0,868
80	1600	400	1,033
100	2000	0	1,194

Pipetar em triplicata 70 µL de cada concentração e adicionar 210 µL do reagente DMAC na microplaca de poliestireno com 96 cavidades.

Preparar o branco com 70 µL de etanol e 210 µL do reagente DMAC.

Colocar no espectrofotômetro de placa, aguardar 25 minutos e realizar leitura em espectrofotômetro a 630 nm, zerando o equipamento com o branco.

Tabular dados para obter valor de R² e equação da reta.

$$y = 0,016x + 0,038 \quad R^2 = 0,998$$

ANALISE DE AMOSTRAS

Pipetar na microplaca de polietileno, em triplicata, 70 µL de cada extrato e adicionar 210 µL do reagente DMAC.

Colocar no espectrofotômetro de placa, aguardar 25 minutos e realizar leitura em espectrofotômetro a 630 nm, zerando o equipamento com o branco.

Anexo 11- ANÁLISE DA ATIVIDADE ANTIOXIDANTE TOTAL POR DPPH

Fonte: BRAND-WILIAMS, W.; CUVELIER, M.E.; BERSET, C. Use of a free radical method to evaluate antioxidant activity. Food Science and Technology, Londres, v.28, p.25-30. 1995. Com modificações.

MATERIAL

Bequer
Trolox
DPPH
Metanol
Espectrofotômetro
Água destilada

SOLUÇÕES

Solução de DPPH 0,06mM

Dissolver 2,4 mg de DPPH em álcool metílico e completar o volume para 100 mL em um balão volumétrico com álcool metílico, homogeneizar e transferir para um frasco de vidro âmbar, devidamente etiquetado. Preparar e usar apenas no dia da análise.

CURVA DE CALIBRAÇÃO DE TROLOX

Pesar 0,0125 g de Trolox em béquer de 10mL

Transferir quantitativamente (lavar o béquer com metanol 3 vezes) para balão de 50 mL (concentração de 998,84 μ M) e completar o volume com metanol. Esta é a solução Mãe

Diluir a solução mãe para obter as concentrações da tabela

Solução de Trolox (mL)	Solução de álcool Metílico (mL)	Concentração μ M	Abs média
0,25	3,75	50	0,662

0,5	3,5	100	0,623
1,0	3,0	200	0,551
1,5	2,5	300	0,470
2,0	2,0	400	0,402
2,5	1,5	500	0,354
3,0	1,0	600	0,272
3,5	0,5	700	0,219
4,0	0,0	800	0,172

Cada diluição deverá ser pipetada e lida em triplicata

Para cada concentração, pipetar 0,1 mL da diluição + 3,9mL de solução DPPH (0,06mM), incubar pelo tempo determinado no EC50 e ler as absorvâncias.

Usar 4 cubetas, sendo 1 para o branco

BRANCO = 0,1 mL de água destilada + 3,9mL de metanol

TUBO CONTROLE: 0,1mL de água destilada e 3,9 mL de DPPH 0,06 mM. Ler a absorvância.

DETERMINAÇÃO DO TEMPO EC50

Em ambiente escuro, transferir uma alíquota de 0,1 mL da diluição adequada do extrato para tubos de ensaio com 3,9 mL de DPPH (0,06 mM) e homogeneizar em agitador de tubos.

Realizar leitura da absorvância da solução controle.

Utilizar álcool metílico, como branco, para calibrar o espectrofotômetro.

As leituras das absorvâncias (515 nm) devem ser monitoradas a cada cinco minutos, onde é observada a redução da absorvância até sua estabilização. A leitura da absorvância final para o cálculo do EC50 só deve ser feita após a estabilização da absorvância (tempo EC50). Neste caso, as leituras foram realizadas após 30 minutos.

Para experimentos posteriores, com uma mesma amostra, a leitura pode ser feita apenas no tempo estabelecido anteriormente (tempo EC50), acompanhado, também, da leitura inicial do controle.

DETERMINAÇÃO DA ATIVIDADE ANTIOXIDANTE

Determinação da curva do DPPH

Em ambiente escuro, transferir uma alíquota de, aproximadamente, 4 mL de cada solução de DPPH (10 μ M, 20 μ M, 30 μ M, 40 μ M, 50 μ M e 60 μ M) para cubetas de vidro e realizar a leitura em espectrofotômetro a 515 nm. Utilizar álcool metílico, como branco, para calibrar o espectrofotômetro.

Plotar as concentrações de DPPH (M) no eixo X e as respectivas absorvâncias no eixo Y e calcular a equação da reta.

A partir dos extratos da polpa, preparar em tubos de ensaio três diluições diferentes em triplicata. Em ambiente escuro, transferir uma alíquota de 0,1 mL de cada diluição do extrato para tubos de ensaio com 3,9 mL do radical DPPH (item solução de DPPH 0,06 mM) e homogeneizar em agitador de tubos. Utilizar 0,1 mL da solução controle (item solução controle de álcool metílico, acetona e água) com 3,9 mL do radical DPPH e homogeneizar.

Após a leitura, substituir (Eq. 1) o valor correspondente a metade da absorvância inicial do controle pelo y da equação da curva do DPPH (Fig. 2) para encontrar o consumo em μ M DPPH e, em seguida, transformar para g DPPH.

CÁLCULO

Equivalência de controle e DPPH

$$y = ax + b \text{ (Eq. 1)}$$

(Equação da curva do DPPH, onde:

y = Absorvância inicial do controle /2 (item determinação da atividade antioxidante total)

x = resultado em μ M DPPH

Obs.: converter para g DPPH, através da transformação:

$$\text{g DPPH/L} = (\mu\text{M DPPH} / 1.000.000) * 394,3 \text{ (peso molecular do DPPH).}$$

A partir das absorvâncias obtidas das diferentes diluições dos extratos, plotar a absorvância no eixo Y e diluição (mg/L) no eixo X e determinar a equação da reta (Eq. 2) de cada amostra.

Para calcular a AAT deve-se substituir a absorvância equivalente a 50 % da concentração inicial do DPPH pelo y (Eq. 2) e encontrar o resultado que corresponde

à amostra necessária para reduzir em 50% a concentração inicial do radical DPPH (Ec 50).

Cálculo do Ec50

$$y = - ax + b \text{ (Eq. 2)}$$

onde:

y = Absorbância inicial do controle / 2 (item determinação da atividade antioxidante total)

x = EC50 (mg/L).

A partir do resultado (mg/L) encontrado na equação 2, dividir por 1.000 para ter o valor em g e, em seguida, dividir pelo valor encontrado em g DPPH/L (Eq. 1) para obter o resultado final (Eq. 3) que é expresso em g extrato / g DPPH.

EC50 expresso em g extrato / g DPPH

$$\text{g extrato / g DPPH} = (\text{EC50 (mg/L)} / 1.000 * 1) / \text{g DPPH (Eq. 3)}$$

Anexo 12- ANÁLISE DE ATIVIDADE ANTIOXIDANTE TOTAL POR FRAP

FONTE: PULIDO, R.; BRAVO, L.; SAURA-CALIXTO, F. Antioxidant activity of dietary as determined by a modified ferric reducing/ antioxidant power assay. Journal Agriculture and Food Chemistry, v. 48, p. 3396-3402, 2000.

MATERIAL

HCl

TPTZ

Cloreto férrico

Tampão acetato

FRAP

Trolox

SOLUÇÕES

1. Solução de HCl 40mM

Adicionar 3,34 mL de HCl concentrado em balão volumétrico de 1 L e completar o volume com água destilada. Homogeneizar e armazenar em temperatura ambiente por tempo indeterminado.

2. Solução de TPTZ 10mM

Pesar 312mg de TPTZ e avolumar em balão volumétrico de 100 mL com HCl (40mM). Homogeneizar e armazenar sob refrigeração por até 1 mês.

3. Solução de Cloreto Férrico 20mM

Dissolver 540mg de cloreto férrico em água destilada, transferir para um balão volumétrico de 100 mL e completar até o volume final com água destilada. Homogeneizar e armazenar sob refrigeração por até 1 mês.

4. Tampão acetato 0,3M, pH 3,6

Em um béquer de 1000 mL, dissolver 40,8 g de acetato de sódio em 16 mL de ácido acético glacial. Adicionar 800 mL de água destilada e verificar o pH em pHômetro. Se

necessário, ajustar pH com solução HCl 40mM. Transferir para um balão volumétrico de 1L e completar o volume final com água destilada. Homogeneizar e armazenar sobre refrigeração por tempo indeterminado.

5. Solução de reagente FRAP

Preparar o Reagente FRAP no momento da análise.

O reagente FRAP é obtido a partir da combinação:

- 25mL de tampão acetato 0,3M;
- 2,5mL de solução TPTZ 10mM;
- 2,5mL de solução aquosa de cloreto férrico 20mM;

CURVA DE CALIBRAÇÃO DE TROLOX

Pesar 0,01 g de Trolox em béquer de 10mL

Transferir quantitativamente (lavar o béquer com metanol 3 vezes) para balão de 50 mL (concentração de 800 μ M) e completar o volume com metanol . Esta é a solução Mãe

Diluir a solução mãe para obter as concentrações da tabela

Concentração μ M	Solução de Trolox (mL)	Solução de álcool Metílico (mL)	Abs média
50	0,25	3,75	0,058
100	0,5	3,5	0,149
200	1,0	3,0	0,286
300	1,5	2,5	0,418
500	2,5	1,5	0,655
800	4,0	0	1,081

Transferir, em triplicata, uma alíquota de 90 μ L de cada concentração para tubos de ensaio.

Acrescentar 270 μ L de água destilada;

Misturar 2,7mL de reagente FRAP;

Homogeneizar e manter em banho-maria a 37°C por 30 minutos.

Realizar leitura a 595nm, utilizando o reagente FRAP como branco.

Plotar em planilhas as concentrações de Trolox (μM) no eixo X, e as respectivas absorbâncias no eixo Y e calcular a equação da reta;

Equação da reta: $y = 0,001x + 0,013$, $R^2 = 0,989$

DETERMINAÇÃO DA ATIVIDADE ANTIOXIDANTE

Todos os procedimentos devem ser realizados ao abrigo da luz.

Diluir os extratos na proporção 1:20 (para polpa com semente). Esta é a diluição 100%.

Preparar as diluições 80% e 50% da seguinte forma;

a) 80% - pipetar 0,8 ml da amostra 100% (1/20) e 0,2 ml de água destilada.

b) 50% - pipetar 0,5 ml da amostra 100% (1/20) e 0,5 ml de água destilada.

Para a reação:

Transferir uma alíquota de 90 μL de cada diluição do extrato (100%, 80% e 50%) para tubos de ensaio (em triplicata)

Acrescentar 270 μL de água destilada;

Misturar 2,7mL de reagente FRAP;

Homogeneizar e manter em banho-maria a 37°C por 30 minutos.

Realizar leitura a 595nm, utilizando o reagente FRAP como branco.

A partir das absorbâncias obtidas das diferentes diluições dos extratos, plotar a absorbância no eixo Y e a diluição (mg/L) no eixo X. Em seguida, determinar a equação da reta. Para calcular a AAT, deve-se substituir na equação da reta a absorbância equivalente a 1.000 μM do padrão sulfato ferroso. O valor obtido para o termo x (Eq. 2) corresponde à diluição da amostra (mg/L) equivalente a 1.000 μM de trolox.

$$y = ax + b$$

Onde,

y = Absorbância correspondente a 1.000 μM de trolox

x = Diluição da amostra (mg/L) equivalente a 1.000 μM de Trolox

A partir do resultado encontrado (x) na equação 2, dividir por 1.000 para ter o valor em g. O resultado final (Eq. 3) é calculado pela divisão de 1.000 (μM) pelo valor de X(g) e multiplicado por 1(g) para encontrar o valor final (Z) que é expresso em μM Trolox/g de fruta (porção comestível).

$$X(g) = x / 1.000$$

$$Z = 1.000 / X(g).1$$

Os resultados da atividade antioxidante são expressos em μMol de Trolox equivalente/g de polpa de fruta fresca.

Anexo 13- QUANTIFICAÇÃO DE FLAVONOIDES POR HPLC/CLAE

Fonte: ARABBI, P. R.; GENOVESE, M. I.; LAJOLO, F. M. Flavonoids in vegetable foods commonly consumed in brazil and estimated ingestion by the brazilian population. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 52, p. 1124-1131, 2004.

MATERIAL

Balão volumétrico de 100 mL;

Balões volumétricos de 10 mL;

Bequer;

Pipeta de 1000 μ L;

Pipeta de 10000 μ L;

Unidade filtrante Millex Filtro 0,45 μ m diâmetro de poro;

Coluna C18 Synergi 4 μ Fusion RP (250 x 4,6 mm; 4 μ m) (Phoemenex, EUA);

Padrões para calibração (orientina, vitexina, isovitexina, hesperitina e isorientina);

Etanol grau HPLC;

Água destilada;

Tetrahidrofurano grau HPLC;

Ácido trifluoroacético grau HPLC;

Acetonitrila grau HPLC;

HCl;

BHT;

HPLC/CLAE com detector DAD;

Vortex;

Centrifuga.

PREPARO DOS EXTRATOS

Pesar aproximadamente 2 g da amostra liofilizada em um falcon de 15ml;

Adicionar 10 mL de solução extratora (etanol:água – 1:1) e homogeneizou-se em vortex.

Deixar em repouso em temperatura ambiente por 24 horas, ao abrigo da luz.

Centrifugar a 4° C por 20 minutos.

Manter no -80° C até o dia da análise.

No dia da análise, descongelar ao abrigo da luz.

Pipetar em um eppendorf 1 ml de extrato.

Solução BHT, preparada no mesmo dia: pesar 0,004 g de bht, transferir quantitativamente para balão de 10 ml com metanol 50% e, acrescentar 1,2 ml de HCl 1.2 N e avolumar com metanol 50%.

Adicionar 0,25 mL de solução BHT no eppendorf contendo 1 mL de amostras e colocar para reagir no ultrassom por cinco minutos;

Filtrar (0,45 µm de diâmetro de poro) e transferir pro vial.

PREPARO DOS PADRÕES PARA CURVA PADRÃO

Pesar 1 mg do padrão;

Preparar solução metanol 50% (1:1);

Dissolver os 1 mg em metanol 1:1 e transferir para balão volumétrico de 10 mL, e completar o volume com metanol 50% (0,1 mg/mL) [solução-mãe];

Para identificação do flavonoide, filtrar cada padrão separadamente.

Para o mix, juntar partes iguais da solução mãe de cada padrão.

OBS: É importante fazer o mix porque muitas vezes os picos se unem na corrida, sendo necessário ajustar o método.

A partir do mix, preparar a curva padrão:

Tabela 1 – Mix dos padrões

Concentração (mg/mL)	Volume de solução mãe (mL)	Volume de metanol (mL)
0,10	2	0
0,08	1,6	0,4
0,06	1,2	0,8
0,04	0,8	1,2

0,02	0,4	1,6
0,01	0,2	1,8

Fazer cada concentração em triplicata;

Tabela 2 – Preparação do padrão Hesperitina.

Concentração ($\mu\text{g/mL}$)	Volume de solução mãe (mL)	Volume de metanol (mL)
50	0,1	1,9
100	0,2	1,8
200	0,4	1,6
400	0,8	1,2
600	1,2	0,8
800	1,6	0,4
1000	2	0

ANÁLISE DE QUANTIFICAÇÃO DE FLAVONOIDES POR HPLC

Para a análise, será utilizado o sistema Hewlet Packard 1100, constituído por injetor automático de amostras, bomba quaternária e detector de arranjo de diodo (DAD), controlados pelo software ChemStation.

Os cromatogramas serão obtidos utilizando λ 270, 340 e 380nm;

Para vitexina, isovitexina, orientina e isoorientina, programar o método para utilizar gradientes de concentração (A) Água: Tetrahydrofurano: Ácido trifluoroacético (99,79:0,2:0,01) e (B) Acetonitrila, com 80% de a e 20% de B, com fluxo de 0,5ml/minuto por 25 minutos.

Para hesperitina, utilizar (A) Água: Tetrahydrofurano: Ácido trifluoroacético (99,79:0,2:0,01), com 70% de A de 30% de B, com fluxo de 0,7 ml/min por 25 minutos.

Obs: Optou-se por fazer duas corridas separadamente, pois a mudança no gradiente de concentração estava desestabilizando a linha de base. Mas pode ser feita em uma única análise.

Para a limpeza da coluna após a corrida, a porcentagem inicial de solvente B é 90% por 30 minutos.

Para limpeza da coluna antes das análises, usar metanol 70% por 60 minutos.

As amostras serão injetadas em triplicata;

Os resultados serão expressões em μg por g de amostra (b.s).

Anexo 14- LIMIAR DE DETECÇÃO GOSTO DOCE

Fonte: PRESCOTT J, NORRIS L, KUNST M, KIM S. *Estimating a consumer rejection threshold for cork taint in white wine. Food Quality and Preference. 2005; 16(1): 345-49.*

MATERIAL

Polpa de *P. setacea* espaladeira chuva (33%)

Água

Açúcar refinado

AMOSTRAS

1. Néctar com concentração média de açúcar (8%)
2. Néctar com 7,0% de açúcar;
3. Néctar com 6,0% de açúcar;
4. Néctar com 5,5% de açúcar;
5. Néctar com 5,0% de açúcar;
6. Néctar com 4,5% de açúcar e
7. Néctar com 4,0% de açúcar.

Limiar de detecção

Para determinação dos níveis de redução nos produtos em que as mudanças sensoriais perceptíveis começam a ocorrer (valor de limiar de detecção) foram usadas sequências de seis testes de comparação pareada, tal como proposto por Prescott et al. (2005). O teste foi realizado com 50 avaliadores. As amostras foram apresentadas na ordem de redução ascendente, aleatorizadas dentro de cada par. Foi solicitado aos avaliadores que indicassem a amostra com o gosto mais doce. Em cada par, uma amostra apresentava a concentração média de açúcar (8%) e outra com uma concentração reduzida (7,0%; 6,0%; 5,5%; 5,0%; 4,5% e 4,0%). O limiar de detecção foi calculado por interpolação, sendo a dose correspondente à porcentagem de avaliadores que acertou a amostra mais doce para uma significância estatística ($p < 0,05$), segundo tabela de distribuição unilateral para teste pareado-preferência (ISO, 2005; PRESCOTT *et al.*, 2005).

Nome:

Data:

Por favor, deguste as amostras da esquerda para a direita, enxágue a boca após a avaliação de cada amostra e espere trinta segundos. Circule o código da amostra de gosto mais doce.

241	258
270	873
083	371
286	156
449	130
654	875

Comentários:

Figura 1. Ficha utilizada no teste de limiar de detecção.

Fonte: ISO 2005, adaptado

Anexo 15- TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO



Faculdade de Ciências da Saúde

Departamento de pós-Graduação em Nutrição Humana

TELEFONE (061) 3107-1779

E-mail: pgnut@unb.br <http://fs.unb.br>

Termo de Consentimento Livre e Esclarecido – TCLE

O(a) senhor(a) está sendo convidado(a) a participar do projeto: **“Efeito do sistema de condução (latada ou espaladeira) na composição de compostos bioativos, atividade antioxidante e qualidade sensorial de frutos de *Passiflora setacea*”**.

O objetivo dessa pesquisa é: avaliar a qualidade sensorial de polpas de *Passiflora setacea* correlacionando-a às condições de cultivo e climáticas em que os frutos são produzidos.

O(a) senhor(a) receberá todos os esclarecimentos necessários antes e no decorrer da pesquisa e lhe asseguramos que seu nome será mantido no mais rigoroso sigilo, através da omissão total de quaisquer informações que permitam identificá-lo(a).

A sua participação será através de um *Questionário de avaliação sensorial* que o(a) senhor(a) deverá responder antes da degustação do produto. O teste tem um tempo estimado de 15 minutos de duração. Informamos que o(a) Senhor(a) pode se recusar a responder (ou participar de qualquer procedimento) que lhe traga constrangimento, podendo desistir de participar da pesquisa em qualquer momento sem nenhum prejuízo para o(a) senhor(a). Sua participação é voluntária, e não há pagamento por sua colaboração.

O(a) senhor(a) receberá seis amostras de refresco de maracujá codificadas com números em copos descartáveis de plástico branco. O senhor deverá indicar o quanto gosta ou desgosta da amostra, utilizando a escala disponível na ficha de análise sensorial. Em seguida, para cada amostra, o(a) senhor(a) deverá marcar um “x” nos descritores apresentados na ficha de análise sensorial. Marque um “x” na alternativa

“**sim**”, se o(a) senhor(a) concorda que **a amostra apresenta a característica** correspondente ou “**não**”, se o(a) senhor(a) acredita que **a amostra de refresco analisada não apresenta aquela característica**. A qualquer momento o(a) senhor(a) poderá esclarecer suas dúvidas com nossa equipe de pesquisa, que foi orientada para auxiliá-lo(a).

Os riscos que poderiam estar envolvidos nesta pesquisa, referentes a raras alergias alimentares, foram minimizados uma vez que você informou anteriormente não ter alergia alimentar a Maracujá. No entanto, haverá indenização por eventual dano causado pela pesquisa.

Os resultados da pesquisa serão divulgados na Faculdade de Ciências da Saúde da Universidade de Brasília podendo ser publicados posteriormente. Os dados e materiais utilizados na pesquisa ficarão sob a guarda do pesquisador. Com os resultados obtidos nesta pesquisa, espera-se aumentar o potencial mercadológico do maracujá do cerrado, favorecendo a diversificação da dieta através do consumo de um fruto nativo do Cerrado.

Se o(a) Senhor(a) tiver qualquer dúvida em relação à pesquisa, por favor telefone para Mariana Veras Oliveira de Carvalho, pesquisadora responsável pelo projeto. Telefone: (XX) XXXX-XXXX.

Este projeto foi aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa da Faculdade de Ciências da Saúde da Universidade de Brasília, que tem a função de defender os interesses dos sujeitos da pesquisa em sua integridade e dignidade e contribuir no desenvolvimento da pesquisa dentro de padrões éticos. As dúvidas com relação à assinatura do TCLE ou os direitos do sujeito da pesquisa podem ser obtidos através do telefone: (61) 3107-1947. Este documento foi elaborado em duas vias, uma ficará com o pesquisador responsável e a outra com o participante da pesquisa.

Nome / assinatura

Mariana Veras Oliveira de Carvalho- CRN DF 5638

Anexo 16- FICHA DE RECRUTAMENTO



Faculdade de Ciências da Saúde Departamento de pós-Graduação em Nutrição Humana

TELEFONE (061) 3107-1779
E-mail: pgnut@unb.br <http://fs.unb.br> br

IMPORTANTE: AS INFORMAÇÕES CONTIDAS NESTE QUESTIONÁRIO SÃO CONFIDENCIAIS.

Ser um avaliador não exigirá de você nenhuma habilidade excepcional, não tomará muito do seu tempo e não envolverá nenhuma tarefa difícil. Este questionário consiste em uma avaliação básica de suas aptidões sensoriais e de suas condições médicas/de saúde, para a realização do teste sensorial. Se você deseja participar, por favor, preencha este formulário assinando-o no final. Caso você atenda aos requisitos mínimos necessários, você será convidado a participar do teste sensorial.

Dados pessoais:

Nome: _____

E-mail: _____

Celular: _____ Telefone: _____

Idade: _____ Sexo: _____

Estado civil: _____ Profissão/área do conhecimento: _____

Você fuma?

() Sim. Quantos cigarros você fuma por dia? _____ () Não

Você toma medicamento(s) que afeta(m) algum(ns) de seus sentidos?

() Sim. Qual: _____ () Não

Por favor, indique se algum dos alimentos abaixo te causa desconforto ou alergia:

() Maracujá () Açúcar () Outros: _____

Você se compromete a preencher um questionário a respeito de seus dados demográficos, preocupação com a saúde e atitude referente a consumo de alimentos desconhecidos, que será enviado por email posteriormente?

() Sim

() Não. Neste caso, agradecemos sua participação.

Assinatura: _____

Anexo 17- FORMULÁRIO DE ANÁLISE SENSORIAL



UnB

Faculdade de Ciências da Saúde

Departamento de pós-Graduação em Nutrição Humana

TELEFONE (061) 3107-1779

E-mail: pgnut@unb.br <http://fs.unb.br> br

Análise Sensorial de Refresco de Maracujá do Cerrado

Nome: _____

Você está recebendo uma amostra de **refresco de maracujá do cerrado**.
Por favor, indique o código da amostra, prove-a e marque na escala abaixo o quanto você gostou do produto.

Código: _____

<input type="checkbox"/>								
desgostei				nem				Gostei
muitíssimo				gostei				muitíssimo
				nem				
				desgostei				

Ainda em relação à amostra acima, prove-a e analise se os termos são apropriadas para descrevê-la:

Aparência		
<input type="checkbox"/> Menos encorpado	<input type="checkbox"/> Amarelo claro	<input type="checkbox"/> Menos opaco
<input type="checkbox"/> Leitoso (opaco)	<input type="checkbox"/> Mais encorpado	<input type="checkbox"/> Amarelo
		<input type="checkbox"/> amarronzado
Aroma		
<input type="checkbox"/> Aroma característico de maracujá	<input type="checkbox"/> Aroma ácido	<input type="checkbox"/> Aroma adocicado
<input type="checkbox"/> Aroma de folhas	<input type="checkbox"/> Aroma floral	
Sabor		

<input type="checkbox"/> Sabor característico de maracujá	<input type="checkbox"/> Gosto amargo	<input type="checkbox"/> Gosto ácido
<input type="checkbox"/> Sabor amadeirado	<input type="checkbox"/> Gosto doce	

Textura

<input type="checkbox"/> Fluido	<input type="checkbox"/> Heterogêneo (separa fases)	<input type="checkbox"/> Viscoso
<input type="checkbox"/> Menos denso	<input type="checkbox"/> Homogêneo	<input type="checkbox"/> Presença de partículas
<input type="checkbox"/> Adstringente	<input type="checkbox"/> Mais denso	<input type="checkbox"/> fases)

Anexo 18- FORMULÁRIO GOOGLE – COLETA DE DADOS DE AVALIADORES

Você foi convidado a participar como avaliador da análise sensorial (degustação) de refresco de maracujá do cerrado

Agradecemos imensamente pela sua participação.

Para finalizá-la, solicitamos que responda este rápido formulário a respeito dos seus dados pessoais, aspectos relacionados a preocupação com a saúde e comportamento diante de alimentos desconhecidos.

IMPORTANTE: AS INFORMAÇÕES CONTIDAS NESTE QUESTIONÁRIO SÃO CONFIDENCIAIS.

Desde já, agradecemos sua colaboração!

Mariana Veras

Dados pessoais:

1. Nome: *

2. E-mail: *

3. Celular: *

4. Telefone:

5. Idade: *

Marcar apenas uma opção

() 18 a 24 anos

() 25 a 34 anos

() 35 a 44 anos

() 45 a 54 anos

() 55 a 64 anos

mais de 60 anos

6. Sexo *

Marcar apenas uma opção

() Feminino

() Masculino

7. Escolaridade: *

Marcar apenas uma opção

() ENSINO FUNDAMENTAL OU 1º GRAU

() ENSINO MÉDIO OU 2º GRAU

- SUPERIOR DE GRADUAÇÃO
- ESPECIALIZAÇÃO DE NÍVEL SUPERIOR (MÍNIMO DE 360 HORAS)
- MESTRADO
- DOUTORADO

8. Estado civil: *

Marcar apenas uma opção

- CASADO(A)
- DIVORCIADO(A)
- DESQUITADO(A) OU SEPARADO(A) JUDICIALMENTE
- VIÚVO(A)
- SOLTEIRO(A)

9. Profissão/área do conhecimento: *

10. Renda familiar: *

Marcar apenas uma opção

- 1 a 5 salários mínimos
- 6 a 10 salários mínimos
- 11 a 20 salários mínimos
- acima de 20 salários mínimos

11. Condições médicas: *

Você apresenta:

Marque todas que se aplicam.

- Diabetes
- Rinite crônica
- Desordens do sistema nervoso central
- Deficiências visuais severas
- Nenhuma
- Outro:

12. Você está fazendo alguma dieta especial? *

Marque todas que se aplicam.

- Diabética
- Vegetariana
- Baixo teor de calorias
- Baixo teor de sódio/sal
- Nenhuma
- Outro:

13. Você gosta de preparação à base de maracujá? *

Marcar apenas uma opção

- Sim
 Mais ou menos
 Não

14. Com que frequência você consome refresco de maracujá (preparado com polpa ou industrializado)? *

Marcar apenas uma opção.

- 2 ou mais vezes por semana
 1 vez por semana
 2 vezes por mês
 1 vez por mês
 1 vez a cada 3 meses
 Raramente
 Nunca

15. Para cada uma das afirmativas abaixo, marque a alternativa que melhor reflita a forma como você reage a alimentos novos e diferentes

- (1) Discordo plenamente,
 (2) Discordo parcialmente,
 (3) Não concordo nem discordo
 (4) Concordo parcialmente,
 (5) Concordo plenamente.

Marcar apenas uma opção.

1. Constantemente aprovo alimentos novos e diferentes. *

1 ()	2 ()	3 ()	4 ()	5 ()
Discordo plenamente				Discordo plenamente

2. Não confio em alimentos novos. *

1 ()	2 ()	3 ()	4 ()	5 ()
Discordo plenamente				Discordo plenamente

3. Se eu não sei o que tem um alimento, não irei experimentar. *

1 ()	2 ()	3 ()	4 ()	5 ()
Discordo plenamente				Discordo plenamente

4. Gosto de alimentos de diferentes países. *

1 ()	2 ()	3 ()	4 ()	5 ()
Discordo plenamente				Discordo plenamente

5. É estranho comer alimentos de culturas diferentes. *

1 ()	2 ()	3 ()	4 ()	5 ()
Discordo plenamente				Discordo plenamente

6. Em jantares festivos, provo novos tipos de alimentos. *

1 ()	2 ()	3 ()	4 ()	5 ()
Discordo plenamente				Discordo plenamente

7. Tenho medo de comer alimentos que nunca comi antes. *

1 ()	2 ()	3 ()	4 ()	5 ()
Discordo plenamente				Discordo plenamente

8. Eu sou muito exigente a respeito dos tipos de alimentos que irei comer. *

1 ()	2 ()	3 ()	4 ()	5 ()
Discordo plenamente				Discordo plenamente

9. Eu como quase tudo. *

1 ()	2 ()	3 ()	4 ()	5 ()
Discordo plenamente				Discordo plenamente

10. Gosto de experimentar novos restaurantes de culturas diferentes. *

1 ()	2 ()	3 ()	4 ()	5 ()
Discordo plenamente				Discordo plenamente

16. Para cada uma das afirmativas abaixo, marque a alternativa que melhor reflita seu conhecimento e aceitação sobre alimentos funcionais

- (1) Discordo plenamente,
- (2) Discordo parcialmente,
- (3) Não concordo nem discordo
- (4) Concordo parcialmente,
- (5) Concordo plenamente.

1. Eu conheço alimentos com impactos benéficos específicos para a saúde. *

1 ()	2 ()	3 ()	4 ()	5 ()
Discordo plenamente				Discordo plenamente

2. Eu conheço alimentos enriquecidos. *

1 ()	2 ()	3 ()	4 ()	5 ()
Discordo plenamente				Discordo plenamente

3. Como você julga seu conhecimento sobre alimentos funcionais. Definição: "Alimentos funcionais são alimentos normais que alegam efeitos de proteção à saúde quando consumidos em quantidades (porções) normais por pessoas saudáveis". *

1 ()	2 ()	3 ()	4 ()	5 ()
Discordo plenamente				Discordo plenamente

4. Alimentos funcionais são aceitáveis para mim se tiverem bom sabor. *

1 ()	2 ()	3 ()	4 ()	5 ()
Discordo plenamente				Discordo plenamente

5. Alimentos funcionais são aceitáveis, mesmo que o sabor seja pior que a alternativa convencional.

*

1 ()	2 ()	3 ()	4 ()	5 ()
Discordo plenamente				Discordo plenamente

6. Alimentos desempenham um papel importante na minha saúde. *

1 ()	2 ()	3 ()	4 ()	5 ()
Discordo plenamente				Discordo plenamente

7. Eu sinto que tenho controle sobre a minha saúde. *

1 ()	2 ()	3 ()	4 ()	5 ()
Discordo plenamente				Discordo plenamente

8. Eu sinto que minha alimentação é mais saudável agora do que há cinco anos. *

1 ()	2 ()	3 ()	4 ()	5 ()
Discordo plenamente				Discordo plenamente

9. Alimentos funcionais têm um impacto benéfico em minha saúde. *

1 ()	2 ()	3 ()	4 ()	5 ()
Discordo plenamente				Discordo plenamente

10. Eu percebo os alimentos funcionais como parte de um modo de vida natural. *

1 ()	2 ()	3 ()	4 ()	5 ()
Discordo plenamente				Discordo plenamente

11. Alimentos funcionais me permitem ter o controle da minha saúde. *

1 ()	2 ()	3 ()	4 ()	5 ()
Discordo plenamente				Discordo plenamente

12. O consumo de alimentos funcionais é uma maneira conveniente de obter a ingestão diária recomendada de certos componentes, a qual eu nunca conseguiria com minha dieta convencional. *

1 ()	2 ()	3 ()	4 ()	5 ()
Discordo plenamente				Discordo plenamente

17. Para cada um dos grupos de alimentos abaixo, marque a alternativa que melhor reflita sua frequência de consumo.

- (1) Nunca,
- (2) Muito raramente,
- (3) Raramente
- (4) Ocasionalmente,
- (5) Frequentemente,
- (6) Muito frequentemente,
- (7) Sempre

1. Alimentos enriquecidos/fortificados em vitaminas. *

1 ()	2 ()	3 ()	4 ()	5 ()	6 (..)	7 ()
Nunca			Ocasionalmente			Sempre

2. Alimentos enriquecidos/fortificados em minerais. *

1 ()	2 ()	3 ()	4 ()	5 ()	6 (..)	7 ()
Nunca			Ocasionalmente			Sempre

3. Produtos laticínios probióticos. *

1 ()	2 ()	3 ()	4 ()	5 ()	6 (..)	7 ()
Nunca			Ocasionalmente			Sempre

4. Alimentos reduzidos em açúcar (light em açúcar). *

1 ()	2 ()	3 ()	4 ()	5 ()	6 (..)	7 ()
Nunca			Ocasionalmente			Sempre

5. Alimentos com baixo teor de gordura (light em gordura). *

1 ()	2 ()	3 ()	4 ()	5 ()	6 (..)	7 ()
Nunca			Ocasionalmente			Sempre

6. Alimentos sem lactose. *

1 ()	2 ()	3 ()	4 ()	5 ()	6 (..)	7 ()
Nunca			Ocasionalmente			Sempre

7. 7- Alimentos contendo alto teor de fibras. *

1 ()	2 ()	3 ()	4 ()	5 ()	6 (..)	7 ()
Nunca			Ocasionalmente			Sempre

* perguntas obrigatórias

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

A.O.A.C., A. O. O. A. C. **Official methods of the AOAC.** . Washington, DC. : Association of Official Analytical Chemist, 2006.

ABADIO FINCO, F. D. B.; SILVA, I. G.; OLIVEIRA, R. B. D. Physicochemical characteristics and antioxidant activity of three native fruits from brazilian savannah (cerrado). **Brazilian Journal of Food & Nutrition/Alimentos e Nutrição**, v. 23, n. 2, 2012. ISSN 0103-4235.

ALI, M. B.; KHANDAKER, L.; OBA, S. Comparative study on functional components, antioxidant activity and color parameters of selected colored leafy vegetables as affected by photoperiods. **J Food Agric Environ**, v. 7, p. 392-398, 2009.

ALMEIDA, D. F. L. S. **Estudo das Vias Metabólicas das Plantas na Síntese de Pigmentos Naturais.** Porto, Portugal, p.61. 2017

ALVES, A. M. et al. Ascorbic acid and phenolic contents, antioxidant capacity and flavonoids composition of Brazilian Savannah native fruits. **Food Science and Technology (Campinas)**, n. AHEAD, p. 0-0, 2017. ISSN 0101-2061.

ANNUNZIATA, A.; VECCHIO, R. Consumer perception of functional foods: A conjoint analysis with probiotics. **Food Quality and Preference**, v. 28, n. 1, p. 348-355, 2013. ISSN 0950-3293.

ANTÚNEZ, L. et al. Comparison of consumer-based methodologies for sensory characterization: Case study with four sample sets of powdered drinks. **Food Quality and Preference**, v. 56, p. 149-163, 2017. ISSN 0950-3293.

ANVISA. **Portaria n° 386, de 26 de setembro de 2005. Altera a denominação e a composição da Comissão instituída pela Portaria n° 15 ANVISA, de 30 de abril de 1999 para Comissão de Assessoramento Tecnocientífico em Alimentos com Alegação de Propriedades Funcional e ou de Saúde e Novos Alimentos.** SANITÁRIA., A. N. D. V.

ARABBI, P. R.; GENOVESE, M. I.; LAJOLO, F. M. Flavonoids in vegetable foods commonly consumed in Brazil and estimated ingestion by the Brazilian population. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 52, n. 5, p. 1124-1131, 2004. ISSN 0021-8561.

ARAÚJO NETO, S. E. et al. Organic polyculture of passion fruit, pineapple, corn and cassava: the influence of green manure and distance between espaliers. **Ciência e Agrotecnologia**, v. 38, n. 3, p. 247-255, 2014. ISSN 1413-7054.

ARES, G. et al. Application of a check-all-that-apply question to the development of chocolate milk desserts. **Journal of Sensory Studies**, v. 25, n. s1, p. 67-86, 2010. ISSN 1745-459X.

ARES, G. et al. Penalty analysis based on CATA questions to identify drivers of liking and directions for product reformulation. **Food Quality and Preference**, v. 32, p. 65-76, 2014. ISSN 0950-3293.

ARES, G. et al. Visual attention by consumers to check-all-that-apply questions: Insights to support methodological development. **Food Quality and Preference**, v. 32, p. 210-220, 2014. ISSN 0950-3293.

ARES, G.; GAMBARO, A. Influence of gender, age and motives underlying food choice on perceived healthiness and willingness to try functional foods. **Appetite**, v. 49, n. 1, p. 148-58, Jul 2007. ISSN 0195-6663 (Print) 0195-6663 (Linking). Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/17335938> >.

ARES, G.; GIMÉNEZ, A.; DELIZA, R. Influence of three non-sensory factors on consumer choice of functional yogurts over regular ones. **Food Quality and Preference**, v. 21, p. 6, 2010.

ARES, G.; JAEGER, S. Check-all-that-apply (CATA) questions with consumers in practice. Experimental considerations and impact on outcome. **Rapid sensory profiling techniques: Applications in new product development and consumer research**, p. 227-245, 2014.

ARES, G.; JAEGER, S. R. Check-all-that-apply questions: Influence of attribute order on sensory product characterization. **Food Quality and Preference**, v. 28, n. 1, p. 141-153, 2013. ISSN 0950-3293.

ARES, G.; JAEGER, S. R. Examination of sensory product characterization bias when check-all-that-apply (CATA) questions are used concurrently with hedonic assessments. **Food Quality and Preference**, v. 40, p. 199-208, 2015. ISSN 0950-3293.

ARES, G.; JAEGER, S. R. A comparison of five methodological variants of emoji questionnaires for measuring product elicited emotional associations: An application with seafood among Chinese consumers. **Food Research International**, 2017. ISSN 0963-9969.

ARES, G. et al. Investigation of the number of consumers necessary to obtain stable sample and descriptor configurations from check-all-that-apply (CATA) questions. **Food Quality and Preference**, **31**, v. 31, p. 135-141, 2014.

ARES, G. et al. Are consumer profiling techniques equivalent for some product categories? The case of orange-flavoured powdered drinks. **International journal of food science & technology**, v. 46, n. 8, p. 1600-1608, 2011. ISSN 1365-2621.

ATAÍDE, E.; OIVEIRA, J.; RUIGGEIRO, C. Florescimento e frutificação do maracujazeiro silvestre *Passiflora setacea* d. C. cultivado em jaboticabal, sp. **Revista Brasileira Fruticultura** v. 34, n. 2, p. 5, 2012. Disponível em: < <http://www.scielo.br/pdf/rbf/v34n2/09.pdf> >.

BAGCHI, D. Nutraceuticals and functional foods regulations in the United States and around the world. **Toxicology**, v. 221, n. 1, p. 1-3, 2006. ISSN 0300-483X.

BALASUNDRAM, N.; SUNDRAM, K.; SAMMAN, S. Phenolic compounds in plants and agri-industrial by-products: Antioxidant activity, occurrence, and potential uses. **Food chemistry**, v. 99, n. 1, p. 191-203, 2006. ISSN 0308-8146.

BARTZOKA, E. et al. Synthesis of nano and microstructures from proanthocyanidins, tannic acid and epigallocatechin-3-o-gallate for active delivery. **Green Chemistry**, p. 49, 2017.

BERNAL, J. **El cultivo de la granadilla *Passiflora ligularis***. . Memorias Primer Simposio Internacional de Pasifloras. Palmira, Colombia.: 153-163 p. 1990.

BHAGWAT, S.; HAYTOWITZ, D. B.; HOLDEN, J. M. USDA database for the flavonoid content of selected foods, Release 3.1. **Beltsville: US Department of Agriculture**, p. 03-1, 2011.

BIAN, Z. H.; YANG, Q. C.; LIU, W. K. Effects of light quality on the accumulation of phytochemicals in vegetables produced in controlled environments: a review. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, v. 95, n. 5, p. 869-877, 2015. ISSN 1097-0010.

BOMTEMPO, L. et al. Bioactive amines in *Passiflora* are affected by species and fruit development. **Food Research International**, v. 89, n. 1, p. 5, 2016.

BOURNEPARTNERS. Nutraceutical Sector Report. 2017. Disponível em: < <http://bournepartners.com/research/sector-reports/38/nutraceutical-sector-report> >. Acesso em: 09/2017.

BRAIDOT, E. et al. Transport and accumulation of flavonoids in grapevine (*Vitis vinifera* L.). **Plant signaling & behavior**, v. 3, n. 9, p. 626-632, 2008. ISSN 1559-2324.

BRAMLEY, P. Regulation of carotenoid formation during tomato fruit ripening and development. **Journal of experimental botany**, v. 53, n. 377, p. 2107-2113, 2002. ISSN 1460-2431.

BRAND-WILLIAMS, W. C., M.E.; BERSET, C. Use of a free radical method to evaluate antioxidant activity. **Lebensmittel-Wissenschaft und-Technologie**28, v. 28, n. 1, p. 6, 1995.

BUGAUD, C.; DARIBO, M. O.; DUBOIS, C. Climatic conditions affect the texture and colour of Cavendish bananas (*Grande Naine* cultivar). **Scientia Horticulturae** v. 113, p. 238–243, 2007.

BUI, D. Consumer Acceptance of Functional Foods in Ho Chi Minh City. **Eurasian Journal of Business and Economics** v. 8, n. 16, p. 16, 2015.

BURLINGAME, B.; MOUILLÉ, B.; CHARRONDIÈRE, R. Nutrients, bioactive non-nutrients and anti-nutrients in potatoes. **Journal of Food Composition and Analysis**, v. 22, n. 6, p. 494-502, 2009. ISSN 0889-1575.

CAMPOS, A. **Características físico-químicas e composição mineral de polpa de *Passiflora setacea***. . à Faculdade de Agronomia– Universidade de Brasília. . 2010

CAMPOS, F. et al. Handling Practices to Control Ascorbic Acid and b-Carotene Losses in Collards (*Brassica oleracea*). **Food Sci Tech Int** v. 15, n. 5, p. 7, 2009.

CARDELLO, A. V. et al. Predictors of food acceptance, consumption and satisfaction in specific eating situations. **Food Quality and Preference**, v. 11, n. 3, p. 201-216, 2000. ISSN 0950-3293.

- CASTELLARIN, S. et al. Transcriptional regulation of anthocyanin biosynthesis in ripening fruits of grapevine under seasonal water deficit. **Plant, Cell & Environment**, v. 30, n. 11, p. 1381-1399, 2017. ISSN 1365-3040. Disponível em: < <http://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1111/j.1365-3040.2007.01716.x/abstract> <http://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1111/j.1365-3040.2007.01716.x/full> <http://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1111/j.1365-3040.2007.01716.x/pdf> >.
- CASTRO-VÁZQUEZ, L. et al. Effect of geographical origin on the chemical and sensory characteristics of chestnut honeys. **Food Research International**, v. 43, p. 5, 2010.
- CATTEAU, C. et al. Impact des jus de fruits et des boissons fruitées sur la santé de l'enfant et de l'adolescent: le point de vue du chirurgien dentiste. **Archives de pédiatrie**, v. 19, n. 2, p. 118-124, 2012. ISSN 0929-693X.
- CAVALCANTE, U. M. T. et al. Respostas fisiológicas em mudas de maracujazeiro amarelo (*Passiflora edulis* Sims. f. *flavicarpa* Deg.) inoculadas com fungos micorrízicos arbusculares e submetidas a estresse hídrico. **Acta botânica brasileira**, v. 15, n. 3, p. 379-390, 2001.
- CAZZONELLI, C.; POGSON, B. Source to sink: regulation of carotenoid biosynthesis in plants. **Trends in plant science**, v. 15, n. 5, p. 266-274, 2010. ISSN 1360-1385.
- CERVI, A. C. Espécies de *Passiflora* L. (Passifloraceae) publicadas e descritas nos últimos 55 anos (1950-2005) na América do Sul e principais publicações brasileiras. **Estudos de Biologia**, v. 27, p. 19-24, 2005.
- CHANG, Y. et al. Bioconverted Jeju Hallabong tangor (*Citrus kiyomi* × *ponkan*) peel extracts by cytolase enhance antioxidant and anti-inflammatory capacity in RAW 264.7 cells. **Nutrition research and practice**, v. 10, n. 2, p. 131-138, 2016. ISSN 1976-1457.
- CHOI, E.; AHN, W. Neuroprotective effects of chronic hesperetin administration in mice. **Archives of pharmacal research**, v. 31, n. 11, p. 1457-1462, 2008. ISSN 0253-6269.
- CONKLIN, P. L. Recent advances in the role and biosynthesis of ascorbic acid in plants. **Plant, Cell & Environment**, v. 24, n. 4, p. 383-394, 2001. ISSN 1365-3040.
- CONTRERAS-CALDERÓN, J. et al. Antioxidant capacity, phenolic content and vitamin C in pulp, peel and seed from 24 exotic fruits from Colombia. **Food research international**, v. 44, n. 7, p. 2047-2053, 2011. ISSN 0963-9969.
- CORSO, P. B., M. Tradução e validação para a língua portuguesa de questionário sobre fatores cognitivos e comportamentais que afetam a aceitação de alimentos funcionais. **Alim. Nutr., Araraquara**, v. 23, n. 1, p. 6, 2012. ISSN 0103-4235. Disponível em: < <http://serv-bib.fcfa.unesp.br/seer/index.php/alimentos/article/viewFile/1825/1825> >.
- CORTELL, J. M.; KENNEDY, J. A. Effect of shading on accumulation of flavonoid compounds in (*Vitis vinifera* L.) pinot noir fruit and extraction in a model system. **J Agric Food Chem**, v. 54, n. 22, p. 8510-20, Nov 01 2006. ISSN 0021-8561 (Print) 0021-8561 (Linking). Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/17061828> >.
- COSTA, A. M. et al. Produção de mudas de maracujazeiro silvestre (*Passiflora setacea*).

Embrapa Cerrados-Comunicado Técnico (INFOTECA-E), 2016.

COSTA, A. M. et al. **Propriedades físico-químicas de maracujás cultivados nos sistemas orgânico e convencional , em consórcio com a mandioca. . Embrapa comunicado técnico 158**. EMBRAPA. Planaltina, DF. 2008.

COSTA, A. M.; DE MORAIS, K. L.; DOS SANTOS, F. E. **Influência do tipo de condução na qualidade físico-química da polpa do brs pérola do cerrado (passiflora setacea)**. XXIII Congresso Brasileiro de Fruticultura. Cuiabá, MT, Brazil. 2014.

COSTA, A. M. C. et al. **Características físico-química-funcional da polpa de passiflora setacea recém processada e congelada**. Embrapa Cerrados, 2008.

COURTES, A. A. et al. Protective effects of aqueous extract of Luehea divaricata against behavioral and oxidative changes induced by 3-nitropropionic acid in rats. **Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine**, v. 2015, 2015. ISSN 1741-427X.

DA COSTA, A. V. et al. Neuroprotective effects of Pouteria ramiflora (Mart.) Radlk (Sapotaceae) extract on the brains of rats with streptozotocin-induced diabetes. **Metabolic brain disease**, v. 28, n. 3, p. 411-419, 2013. ISSN 0885-7490.

DE SOUZA, V. R. et al. Determination of bioactive compounds, antioxidant activity and chemical composition of Cerrado Brazilian fruits. **Food chemistry**, v. 134, n. 1, p. 381-386, 2012. ISSN 0308-8146.

DEL GIUDICE, T.; PASCUCCI, S. The Role of Consumer Acceptance in the Food Innovation Process: Young Consumer Perception of Functional Food in Italy. **Int. J. Food System Dynamics**, v. 2, p. 11, 2010.

DEWICK, P. M. **Medicinal natural products: a biosynthetic approach**. 3. England: John Wiley & Sons, 2009. ISBN 0471496413.

DIAS, A. L. et al. Development and validation of an UHPLC-LTQ-Orbitrap MS method for non-anthocyanin flavonoids quantification in Euterpe oleracea juice. **Analytical and bioanalytical chemistry**, v. 405, n. 28, p. 9235-9249, 2013. ISSN 1618-2642.

DIDIER, C. Growing passion fruit. **Tropical Fruits Newsletter**, v. 38, n. 39, p. 24-27, 2001.

DIPLOCK, A. P. et al. Scientific concepts of functional foods in Europe: consensus document. **British journal of nutrition**, v. 81, n. 1, p. 1-27, 1999.

DOMINGOS, S. et al. Light management and gibberellic acid spraying as thinning methods in seedless table grapes (*Vitis vinifera* L.): Cultivar responses and effects on the fruit quality. **Scientia Horticulturae** **201 (2016) 68–77**, v. 201, p. 10, 2016.

DONADO-PESTANA, C. M.; BELCHIOR, T.; GENOVESE, M. I. Phenolic compounds from cagaita (*Eugenia dysenterica* DC.) fruit prevent body weight and fat mass gain induced by a high-fat, high-sucrose diet. **Food Research International**, v. 77, p. 177-185, 2015. ISSN 0963-9969.

DONATO, F. et al. Hesperidin exerts antidepressant-like effects in acute and chronic treatments in mice: Possible role of L-arginine-NO-cGMP pathway and BDNF levels. **Brain research bulletin**, v. 104, p. 19-26, 2014. ISSN 0361-9230.

DOOLEY, L.; LEE, Y.; MEULLENET, J. F. The application of check-all-that-apply (CATA) consumer profiling to preference mapping of vanilla ice cream and its comparison to classical external preference mapping. **Food quality and preference**, v. 21, n. 4, p. 394-401, 2010. ISSN 0950-3293.

DOWNEY, M.; DOKOOZLIAN, N.; KRSTIC, M. Cultural practice and environmental impacts on the flavonoid composition of grapes and wine: a review of recent research. **American Journal of Enology and Viticulture**, v. 57, n. 3, p. 257-268, 2006. ISSN 0002-9254. Disponível em: < <http://www.ajevonline.org/content/57/3/257> >.

DRAKE, M. A. Invited review: Sensory analysis of dairy foods. **Journal of dairy science**, v. 90, n. 11, p. 4925-4937, 2007. ISSN 0022-0302.

DUARTE, I. **INFLUÊNCIA DO CONSUMO AGUDO DO SUCO DE PASSIFLORA SETACEA SOBRE A CAPACIDADE FAGOCITÁRIA, PRODUÇÃO DE RADICAIS LIVRES E EXPRESSÃO DE CORPÚSCULOS LIPÍDICOS POR MONÓCITOS DE INDIVÍDUOS COM SOBREPESO**. Dissertação de mestrado em Nutrição Humana/ Faculdade de Ciências da Saúde. 2015

DUTCOSKY, S. D. **Análise sensorial de alimentos**. Champagnat, 2011. ISBN 857292244X.

ELHADI, M. Y. **Tannins in Fruits and Vegetables: Chemistry and Biological Functions**. John Wiley & Sons, 2017. 1488 ISBN 1119157943.

EMBRAPA. **A cultura do maracujá**. 3. Brasília, DF Embrapa Informação Tecnológica, 2006.

EMBRAPA CERRADOS. **Cultivar de maracujazeiro silvestre com quádrupla aptidão: consumo in natura, processamento industrial, ornamental e funcional**. PASSITEC”, D. T. D. P. S. 4: 2 p. 2015.

FALEIRO, F. G.; JUNQUEIRA, N. T.; BRAGA, M. F. Maracujá: germoplasma e melhoramento genético. **Embrapa Cerrados-Livros científicos (ALICE)**, 2005.

FALEIRO, F. G.; JUNQUEIRA, N. T. V.; BRAGA, M. F. **Maracujá: germoplasma e melhoramento genético**. Planaltina, DF: Embrapa Cerrados, 2005.

FAO, F. A. O. **Expert consultation on nutrition indicators for biodiversity 2- Food Consumption**. NATIONS, F. A. A. O. O. T. U. Roma 2010.

FEDRIZZI, B. et al. Identification of intermediates involved in the biosynthetic pathway of 3-mercaptohexan-1-ol conjugates in yellow passion fruit (*Passiflora edulis* f. *flavicarpa*). **Phytochemistry**, v. 77, p. 287-293, 2012. ISSN 0031-9422.

FIGUEIRÓ, R. et al. Diversity and microdistribution of black fly (Diptera: Simuliidae) assemblages in the tropical savanna streams of the Brazilian cerrado. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**, v. 107, n. 3, p. 362-369, 2012. ISSN 0074-0276.

FISCHER, G. Aspectos de la fisiología aplicada de los frutales promisorios en cultivo y poscosecha. **Rev. Comalfi**, v. 32, n. 1, p. 22-34, 2005.

FISCHER, G.; CASIERRA-POSADA, F.; PIEDRAHÍTA, W. Ecofisiología de las especies pasifloráceas cultivadas en Colombia. **Cultivo, poscosecha y comercialización de las pasifloráceas en Colombia: maracuyá, granadilla, gulupa y curuba. Sociedad Colombiana de Ciencias Hortícolas. Bogotá, Colombia**, p. 45-67, 2009.

FORMAGIO, A. S. et al. The flavonoid content and antiproliferative, hypoglycaemic, anti-inflammatory and free radical scavenging activities of *Annona dioica* St. Hill. **BMC complementary and alternative medicine**, v. 13, n. 1, p. 14, 2013. ISSN 1472-6882.

FRIEDEL, M. et al. Impact of light exposure on fruit composition of white 'Riesling' grape berries (*Vitis vinifera* L.). **Vitis** v. 54, n. 3, p. 9, 2015.

GADIOLI, I. L. **Obtenção, caracterização química, propriedades antioxidantes e antimicrobianas de extratos de polpas, sementes e folhas de passifloras silvestres para formulação de nanoemulsões**. Brasília. 2017

GADIOLI, I. L. et al. A systematic review on phenolic compounds in *Passiflora* plants: Exploring biodiversity for food, nutrition, and popular medicine. **Crit Rev Food Sci Nutr**, p. 0, Sep 19 2016. ISSN 1549-7852 (Electronic) 1040-8398 (Linking). Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/27645583> >.

GAMA, V. et al. Photosynthetic characteristics and quality of five passion fruit varieties under field conditions. **Acta Physiol Plant**, v. 35, p. 8, 2013.

GAUTIER, H. et al. How does tomato quality (sugar, acid, and nutritional quality) vary with ripening stage, temperature, and irradiance? **J Agric Food Chem**, v. 56, n. 4, p. 1241-50, Feb 27 2008. ISSN 0021-8561 (Print) 0021-8561 (Linking). Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/18237131> >.

GAUTIER, H. et al. Regulation of tomato fruit ascorbate content is more highly dependent on fruit irradiance than leaf irradiance. **Ann Bot**, v. 103, n. 3, p. 495-504, Feb 2009. ISSN 1095-8290 (Electronic) 0305-7364 (Linking). Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/19033285> >.

GIACALONE, D. **Consumers' perception of novel beers: Sensory, affective, and cognitive-contextual aspects**. . Dinamarca, p.269. 2013

GIACALONE, D.; BREDIE, W.; FRØST, M. "All-In-One Test" (AI1): A rapid and easily applicable approach to consumer product testing. . **Food Quality and Preference**, v. 27, p. 11, 2013.

GLADSTONE, E. A.; DOKOOZLIAN, N. K. Influence of leaf area density and trellis/training system on the light microclimate within grapevine canopies. **VITIS-GEILWEILERHOF-**, v. 42, n. 3, p. 123-132, 2003. ISSN 0042-7500.

GOMES, S. et al. Accelerated solvent extraction of phenolic compounds exploiting a Box-

Behnken design and quantification of five flavonoids by HPLC-DAD in *Passiflora* species. **Microchemical Journal** v. in press, 2016.

GREGAN, S. et al. Effects of solar ultraviolet radiation and canopy manipulation on the biochemical composition of Sauvignon Blanc grapes. **Australian Journal of Grape and Wine Research** v. 18, p. 11, 2012.

GROSSO, G. et al. A comprehensive meta-analysis on dietary flavonoid and lignan intake and cancer risk: Level of evidence and limitations. **Molecular nutrition & food research**, v. 61, n. 4, 2017. ISSN 1613-4133.

GUIMARÃES, T. G. et al. **Recomendações técnicas para o cultivo de *Passiflora setacea* cv. BRS Pérola do Cerrado**. . EMBRAPA: 6 p. 2013.

HAFLE, O. M. et al. Produtividade e qualidade de frutos do maracujazeiro-amarelo submetido à poda de ramos produtivos. . **Revista Brasileira de Fruticultura**, v. 31, n. 3, p. 7, 2009.

HE, J.; GIUSTI, M. M. Anthocyanins: natural colorants with health-promoting properties. **Annual review of food science and technology**, v. 1, p. 163-187, 2010. ISSN 1941-1413.

HEIM, K. E.; TAGLIAFERRO, A. R.; BOBILYA, D. J. Flavonoid antioxidants: chemistry, metabolism and structure-activity relationships. **J Nutr Biochem**, v. 13, n. 10, p. 572-584, Oct 2002. ISSN 1873-4847 (Electronic)
0955-2863 (Linking). Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/12550068> >.

HENRIQUES, A.; KING, S.; MEISELMAN, L. Consumer segmentation based on food neophobia and its application to product development. **Food Quality and Preference**, v. 20 p. 9, 2009.

HIRSCHBERG, J. Carotenoid biosynthesis in flowering plants. **Current opinion in plant biology**, v. 4, n. 3, p. 210-218, 2001. ISSN 1369-5266.

HOUGH, G. et al. Number of consumers necessary for sensory acceptability tests. **Food quality and preference**, v. 17, n. 6, p. 522-526, 2006. ISSN 0950-3293.

HUANG, W.-Y. et al. Survey of antioxidant capacity and phenolic composition of blueberry, blackberry, and strawberry in Nanjing. **Journal of Zhejiang University-Science B**, v. 13, n. 2, p. 94-102, 2012. ISSN 1673-1581.

IBGE. **Produção agrícola municipal : culturas temporárias e permanentes**. ESTATÍSTICA., I. B. D. G. E. 43: 57 p. 2016.

IGNAT, I.; VOLF, I.; POPA, V. A critical review of methods for characterisation of polyphenolic compounds in fruits and vegetables. **Food chemistry**, v. 126, n. 4, p. 1821-1835, 2011. ISSN 0308-8146.

IOM. **Dietary Reference Intakes for Vitamin A, Vitamin K, Arsenic, Boron, Chromium, Copper, Iodine, Iron, Manganese, Molybdenum, Nickel, Silicon, Vanadium, and Zinc**. MICRONUTRIENTS., I. O. M. U. P. O. Washington (DC): National Academies Press (US) 2001.

JAKOPIC, J. et al. Sugar and phenolics level dependent on the position of apple fruitlet in the cluster. **Scientia Horticulturae**, v. 201, p. 5, 2016.

JANICK, J.; PAULL, R. **The Encyclopedia of Fruit and Nuts**. Cambridge, MA: 2008.

JUNGHANS, T. G.; JESUS, O. **Maracujá: do cultivo à comercialização**. Brasília, DF Embrapa, 2017. ISBN 978-85-7035-711-3. Disponível em: < <http://livimagens.sct.embrapa.br/amostras/00085600.pdf> >.

KAISER, E. et al. Dynamic photosynthesis in different environmental conditions. **Journal of experimental botany**, v. 66, n. 9, p. 2415-2426, 2014. ISSN 1460-2431.

KELLY, G. **The Psychology of Personal Constructs**. New York: W. W. Norton & Company Inc, 1955.

KLÄRING, H. P.; KRUMBEIN, A. The effect of constraining the intensity of solar radiation on the photosynthesis, growth, yield and product quality of tomato. **Journal of Agronomy and Crop Science**, v. 199, n. 5, p. 351-359, 2013. ISSN 1439-037X.

KLINK, C. A.; MACHADO, R. B. A conservação do Cerrado brasileiro. **Megadiversidade**, v. 1, n. 1, p. 147-155, 2005.

KOMURO, L. **Efeitos de sistemas de condução sobre o crescimento, produção, qualidade dos frutos e custos de instalação de maracujazeiro amarelo (Passiflora edulis Sims, f. flavicarpa Deg)**. SP p.53. 2008

KU, S.; KWAK, S.; BAE, J. Orientin inhibits high glucose-induced vascular inflammation in vitro and in vivo. **Inflammation**, v. 37, n. 6, p. 2164-2173, 2014. ISSN 0360-3997.

KUMAR, S.; PANDEY, A. K. Chemistry and biological activities of flavonoids: an overview. **The Scientific World Journal**, v. 2013, p. 1-16, 2013.

LAAKSONEN, O. et al. Sensory properties and consumer characteristics contributing to liking of berries. **Food Quality and Preference**, v. 53, p. 9, 2016.

LAAKSONEN, O. A. et al. Chemical-sensory characteristics and consumer responses of blackcurrant juices produced by different industrial processes. **Food and bioprocess technology**, v. 7, n. 10, p. 2877-2888, 2014. ISSN 1935-5130.

LADO, J. et al. Application of a check-all-that-apply question for the evaluation of strawberry cultivars from a breeding program. **J Sci Food Agric**, v. 90, n. 13, p. 2268-75, Oct 2010. ISSN 1097-0010 (Electronic) 0022-5142 (Linking). Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/20648524> >.

LAGO, J. H. G. et al. Structure-activity association of flavonoids in lung diseases. **Molecules**, v. 19, n. 3, p. 3570-3595, 2014.

LÄHTEENMÄKI, L. Claiming health in food products. **Food Quality and Preference**, v. 27, n. 2, p. 196-201, 2013. ISSN 0950-3293.

LAMBERS, H.; CHAPIN III, S.; PONS, T. **Plant Physiological Ecology**. 2. New York: Springer-Verlag 2008.

LARRAURI, J. A.; RUPÉREZ, P.; SAURA-CALIXTO, F. Effect of drying temperature on the stability of polyphenols and antioxidant activity of red grape pomace peels. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 45, n. 4, p. 3, 1997.

LAWLESS, H.; HEYMANN, H. **Sensory evaluation of food: principles and practices**. . New York: Springer-Verlag, 2010. 596.

LEE, Y.; FINDLAY, C.; MEULLENET, J. F. Experimental consideration for the use of check-all-that-apply questions to describe the sensory properties of orange juices. **International Journal of Food Science and Technology**, v. 48, p. 5, 2012.

LEES, D.; FRANCIS, F. Standardization of pigment analyses in cranberries. **HortScience**, 1972.

LEFSRUD, M. G. et al. Biomass production and pigment accumulation in kale grown under increasing photoperiods. **HortScience**, v. 41, n. 3, p. 603-606, 2006. ISSN 0018-5345.

LESSA, A. **Determinação do teor de compostos fitoquímicos e estudo do potencial para processamento da polpa de frutos de maracujá das espécies silvestres (Passiflora setacea DC, Passiflora cincinnata MAST)**. . p.83. 2011

LETERME, P. et al. Mineral content of tropical fruits and unconventional foods of the Andes and the rain forest of Colombia. **Food Chemistry**, v. 95, n. 4, p. 644-652, 2006. ISSN 0308-8146.

LI, F.; VALLABHANENI, R.; WURTZEL, E. PSY3, a new member of the phytoene synthase gene family conserved in the Poaceae and regulator of abiotic stress-induced root carotenogenesis. **Plant Physiology**, v. 146, n. 3, p. 1333-1345, 2008. ISSN 1532-2548.

LI, M. et al. Ascorbate biosynthesis during early fruit development is the main reason for its accumulation in kiwi. **PloS one**, v. 5, n. 12, p. e14281, 2010. ISSN 1932-6203.

LIM, H. et al. Bioconversion of Citrus unshiu peel extracts with cytolase suppresses adipogenic activity in 3T3-L1 cells. **Nutrition research and practice**, v. 9, n. 6, p. 599-605, 2015. ISSN 1976-1457.

LIMA, A. A. **A cultura do Maracujá**. 3. Brasília, DF Embrapa Mandioca e Fruticultura Tropical 2006. 124 ISBN 85-7383-374-2.

LIMA, V. et al. Total phenolic and carotenoid contents in acerola genotypes harvested at three ripening stages. **Food Chemistry** v. 90, p. 3, 2005.

LOCATO, V.; CIMINI, S.; DE GARA, L. Strategies to increase vitamin C in plants: from plant defense perspective to food biofortification. **Frontiers in plant science**, v. 4, 2013.

LOPES, R. M. et al. Estudo comparativo do perfil de ácidos graxos em semente de passifloras

nativas do cerrado brasileiro. **Revista brasileira de fruticultura**, v. 32, n. 2, p. 498-506, 2010.

LU, N.; SUN, Y.; ZHENG, X. Orientin-induced cardioprotection against reperfusion is associated with attenuation of mitochondrial permeability transition. **Planta medica**, v. 77, n. 10, p. 984-991, 2011. ISSN 0032-0943.

MACHADO, A. K. et al. Neuroprotective effects of Açáí (*Euterpe oleracea* Mart.) against rotenone in vitro exposure. **Oxidative medicine and cellular longevity**, v. 2016, 2016. ISSN 1942-0900.

MADALENA, J.; COSTA, A., M.; DE LIMA, H. Avaliação de usos e conhecimentos de maracujás nativos como meio para definição de estratégias de pesquisa e transferência de tecnologia. **Cadernos de Ciência & Tecnologia**, v. 30, n. 1/3, p. 18, 2013. Disponível em: < <http://ainfo.cnptia.embrapa.br/digital/bitstream/item/136902/1/Avaliacao-de-usos-e-conhecimentos.pdf> >.

MAGIORKINIS, E.; BELOUKAS, A.; DIAMANTIS, A. Scurvy: past, present and future. **European Journal of Internal Medicine**, v. 22, n. 2, p. 147-152, 2011. ISSN 0953-6205.

MALTA, L. G. et al. Assessment of antioxidant and antiproliferative activities and the identification of phenolic compounds of exotic Brazilian fruits. **Food research international**, v. 53, n. 1, p. 417-425, 2013. ISSN 0963-9969.

MARTIN, D. et al. Grape cluster microclimate influences the aroma composition of Sauvignon blanc wine. **Food Chem**, v. 210, p. 640-7, Nov 01 2016. ISSN 0308-8146 (Print) 0308-8146 (Linking). Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/27211692> >.

MDITSHWA, A. et al. Phytochemical content, antioxidant capacity and physicochemical properties of pomegranate grown in different microclimates in South Africa. **South African Journal of Plant and Soil**, v. 30, n. 2, p. 81-90, 2013. ISSN 0257-1862.

MEILGAARD, M.; CIVILLE, G. V.; CARR, B. T. **Sensory Evaluation Techniques**. Florida: CRC Press, 2006.

MELETTI, L. M. Avanços na cultura do maracujá no Brasil. **Revista Brasileira de Fruticultura**, v. 33, n. SPE1, p. 83-91, 2011. ISSN 0100-2945.

MELETTI, L. M. M., BRUCKNER, C. H., BRUCKNER, C. H., & PICANÇO, M. . **Melhoramento genético. Maracujá: tecnologia de produção, pós-colheita, agroindústria, mercado**. Porto Alegre: Cinco Continentes, 2001.

MELLISHO, C. D. et al. Pomegranate (*Punica granatum* L.) fruit response to different deficit irrigation conditions. **Agricultural water management**, v. 114, p. 30-36, 2012. ISSN 0378-3774.

MENG, J. et al. Effect of rain-shelter cultivation of *Vitis vinifera* cv. Cabernet gernischt on the phenolic profile of berry skins and the incidence of grape diseases. **Molecules**, v. 18, n. 1, p. 381-397, 2012.

MEYNEERS, M.; CASTURA; CARR, B. Existing and new approaches for the analysis of

CATA data. **Food Quality and Preference**, v. 30, n. 2, p. 309-319, 2013. ISSN 0950-3293.

MIELE, A.; MANDELLI, F. Sistemas de condução da videira: latada e espaldeira. **Embrapa Uva e Vinho-Capítulo em livro técnico (INFOTECA-E)**, 2016. Disponível em: <<https://www.infoteca.cnptia.embrapa.br/infoteca/bitstream/doc/1060143/1/Manual3Capitulo3.pdf>>.

MIERZIAK, J.; KOSTYN, K.; KULMA, A. Flavonoids as important molecules of plant interactions with the environment. **Molecules**, v. 19, n. 10, p. 16240-16265, 2014.

MINIM, V. P. R. **Análise Sensorial: Estudos dos consumidores**. . Viçosa: Editora UFV, 2010.

MIRANDA, D. **Manejo integral del cultivo de la granadilla (Passiflora ligularis Juss.)**. Sociedad Colombiana de Ciencias Hortícolas, Bogota., 2009. 121-157.

MMA. **O Bioma Cerrado**: Ministério do Meio Ambiente 2017.

MPHAHLELE, R. et al. Effect of fruit maturity and growing location on the postharvest contents of flavonoids, phenolic acids, vitamin C and antioxidant activity of pomegranate juice (cv. Wonderful). **Scientia Horticulturae**, v. 179, p. 36-45, 2014. ISSN 0304-4238.

MUSTONEN, S.; OERLEMANS, P.; TOURILA, H. Familiarity with and affective responses to foods in 8-11-year-old children. The role of food neophobia and parental education. **Appetite**, v. 58, n. 3, p. 3, 2012.

MUTHENNA, P. et al. Effect of cinnamon and its procyanidin-B2 enriched fraction on diabetic nephropathy in rats. **Chemico-biological interactions**, v. 222, p. 68-76, 2014. ISSN 0009-2797.

NEVES, C. S. V. J.; CARVALHO, S. K. C. D.; NEVES, P. M. O. J. Porcentagem de frutificação, período de desenvolvimento dos frutos e unidades térmicas para maracujá amarelo. **Revista Brasileira de Fruticultura, Jaboticabal: SP**, v., v. 21, n. 2, p. 3, 1999.

NOGUEIRA, R. C.; DE CERQUEIRA, H.; SOARES, M. Patenting bioactive molecules from biodiversity: the Brazilian experience. **Expert Opinion on Therapeutic Patents**, v. 20, n. 2, p. 145-157, 2010. ISSN 1354-3776.

NOGUEIRA, R. J. M. C.; SANTOS, R. C., DOS. Alterações fisiológicas no amendoim submetido ao estresse hídrico. **Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental**, v. 4, n. 1, p. 41-45, 2000.

OHTSUKI, K. et al. Glucosyl hesperidin improves serum cholesterol composition and inhibits hypertrophy in vasculature. **Journal of nutritional science and vitaminology**, v. 49, n. 6, p. 447-450, 2003. ISSN 0301-4800.

OLIVEIRA, L.; CARVALHO, M.; MELO, L. Health promoting and sensory properties of phenolic compounds in food. **Revista Ceres**, v. 61, p. 15, 2014.

OLIVEIRA, L. L.; CARVALHO, M. V.; MELO, L. Health promoting and sensory properties

- of phenolic compounds in food. **Revista Ceres**, v. 61, p. 764-779, 2014. ISSN 0034-737X.
- OLIVEIRA, V. B. et al. Native foods from Brazilian biodiversity as a source of bioactive compounds. **Food Research International**, v. 48, n. 1, p. 170-179, 2012. ISSN 0963-9969.
- OTHMAN, R.; ZAIFUDDIN, F.; HASSAN, N. Carotenoid biosynthesis regulatory mechanisms in plants. **Journal of oleo science**, v. 63, n. 8, p. 753-760, 2014. ISSN 1345-8957.
- PANDEY, M. M. et al. Determination of flavonoids, polyphenols and antioxidant activity of *Tephrosia purpurea*: a seasonal study. **Journal of integrative medicine**, v. 14, n. 6, p. 447-455, 2016. ISSN 2095-4964.
- PARADISO, A. et al. Galactone- γ -lactone-dependent ascorbate biosynthesis alters wheat kernel maturation. **Plant Biology**, v. 14, n. 4, p. 652-658, 2012. ISSN 1438-8677.
- PASSAMONTI, S. et al. Bioavailability of Flavonoids: A Review of Their Membrane Transport and the Function of Bilitranslocase in Animal and Plant Organisms. **Current Drug Metabolism**, v. 10, p. 369-394, 2009.
- PEREIRA, R. D. et al. Teor de carotenoides e características pós-colheita de frutos de *Passiflora setacea* D. C. **Revista Iberoamericana de Tecnología Postcosecha**, v. 15, n. 2, 2014. ISSN 1665-0204.
- PETERLUNGER, E. et al. Effect of training system on Pinot noir grape and wine composition. **American Journal of Enology and Viticulture**, v. 53, n. 1, p. 14-18, 2002. ISSN 0002-9254.
- PETRUSSA, E. et al. Plant flavonoids—biosynthesis, transport and involvement in stress responses. **International journal of molecular sciences**, v. 14, n. 7, p. 14950-14973, 2013.
- PINELI, L. et al. Sensory impact of lowering sugar content in orange nectars to design healthier, low-sugar industrialized beverages. **Appetite**, v. 96, p. 5, 2016.
- PINELI, L. et al. Antioxidants and other chemical and physical characteristics of two strawberry cultivars at different ripeness stages. . **Journal of Food Composition and Analysis**, v. 24, p. 6, 2011.
- PINELI, L. **Qualidade e potencial antioxidante in vitro de morangos in natura e submetidos a processamentos**. Brasília, DF., p.222. 2009
- PLAEHN, D. CATA penalty/reward. **Food Quality and Preference**, v. 24, n. 1, p. 141-152, 2012. ISSN 0950-3293.
- PLINER, P.; HOB DEN, K. Development of a scale to measure the trait of food neophobia in humans. **Appetite**, v. 19, n. 2, p. 105-20, Oct 1992. ISSN 0195-6663 (Print) 0195-6663 (Linking). Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/1489209> >.
- POHJANHEIMO, T.; SANDELL, M. Explaining the liking for drinking yoghurt: The role of sensory quality, food choice motives, health concern and product information. **International Dairy Journal**, v. 19, p. 7, 2009.

PREEDY, V. R. **Tomatoes and tomato products: nutritional, medicinal and therapeutic properties**. CRC Press, 2008. ISBN 1439843392.

PRESCOTT, J. et al. Estimating a “consumer rejection threshold” for cork taint in white wine. **Food Quality and Preference**, v. 16, n. 4, p. 345-349, 2005. ISSN 0950-3293.

PRIOR, R. L. et al. Multi-laboratory validation of a standard method for quantifying proanthocyanidins in cranberry powders. **J Sci Food Agric**, v. 90, n. 9, p. 1473-8, Jul 2010. ISSN 1097-0010 (Electronic) 0022-5142 (Linking). Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/20549799> >.

PULIDO, R.; BRAVO, L.; SAURA-CALIXTO, F. Antioxidant activity of dietary polyphenols as determined by a modified ferric reducing/antioxidant power assay. **J Agric Food Chem**, v. 48, n. 8, p. 3396-402, Aug 2000. ISSN 0021-8561 (Print) 0021-8561 (Linking). Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/10956123> >.

RAFFO, A. et al. Seasonal variations in antioxidant components of cherry tomatoes (*Lycopersicon esculentum* cv. Naomi F1). **Journal of Food Composition and Analysis**, v. 19, p. 8, 2006.

RAMAIYA, S. et al. Sugars, ascorbic acid, total phenolic content and total antioxidant activity in passion fruit (*Passiflora*) cultivars. **J Sci Food Agric** v. 93, p. 7, 2013.

RANI DAS, M. et al. Fruit Setting Behaviour of Passion Fruit. **American Journal of Plant Sciences**, v. 4, p. 8, 2013.

REMBERG, S. et al. Effects of preharvest factors on berry quality. . **Acta Hort. (ISHS)**, v. 1017, p. 8, 2014. Disponível em: < <http://sci-hub.cc/10.17660/actahortic.2014.1017.21> >.

REYNOLDS, A.; HEUVEL, J. Influence of grapevine training systems on vine growth and fruit composition: a review. **American Journal of Enology and Viticulture**, v. 60, n. 3, p. 251-268, 2009. ISSN 0002-9254.

RINALDI, M. M. et al. Post-harvest conservation of *Passiflora setacea* DC. fruits submitted to different sanitizers and storage temperatures. **Brazilian Journal of Food Technology**, v. 20, 2017. ISSN 1981-6723.

RISTIC, R. et al. Exclusion of sunlight from Shiraz grapes alters wine colour, tannin and sensory properties. **Australian Journal of Grape and Wine Research**, v. 13, p. 12, 2007.

ROCHA, I. F.; BOLINI, H. M. Passion fruit juice with different sweeteners: sensory profile by descriptive analysis and acceptance. **Food Sci Nutr**, v. 3, n. 2, p. 129-39, Mar 2015. ISSN 2048-7177 (Linking). Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/25838891> >.

ROCHA, M. **Compostos bioativos e atividade antioxidante (in vitro) de frutos do cerrado piauiense**. 2011. Dissertação].[Teresina]: Universidade Federal do Piauí, Programa de Pós-Graduação em Alimentos e Nutrição

RODRIGUES, J. S. Q. et al. Qualidade sensorial de néctares de maracujás BRS Ouro Vermelho produzidos em diferentes sistemas de cultivo. **Revista Ceres**, v. 60, p. 7, 2013.

RODRIGUEZ-AMAYA, D. **A Guide To Carotenoid Analysis In Food**. Washington, D. : 2001. ISBN 1-57881-072-8.

ROESLER, R. et al. Atividade antioxidante de frutas do cerrado. **Food Science and Technology**, v. 27, p. 53-60, 2007. ISSN 0101-2061. Disponível em: < http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0101-20612007000100010&nrm=iso >.

ROSALES, M. A. et al. The effect of environmental conditions on nutritional quality of cherry tomato fruits: evaluation of two experimental Mediterranean greenhouses. **J Sci Food Agric**, v. 91, n. 1, p. 152-62, Jan 15 2011. ISSN 1097-0010 (Electronic) 0022-5142 (Linking). Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/20853276> >.

ROSELL, J. R.; SANZ, R. A review of methods and applications of the geometric characterization of tree crops in agricultural activities. **Computers and Electronics in Agriculture**, v. 81, p. 124-141, 2012. ISSN 0168-1699.

SALAZAR, A. H. **Avaliação de diferentes porta-enxertos na produção de maracujazeiro (Passiflora edulis Sims)**. Viçosa, MG. , p.71. 2013

SANCHEZ-RODRIGUEZ, E. et al. Phenolic metabolism in grafted versus nongrafted cherry tomatoes under the influence of water stress. **J Agric Food Chem**, v. 59, n. 16, p. 8839-46, Aug 24 2011. ISSN 1520-5118 (Electronic) 0021-8561 (Linking). Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/21732696> >.

SANTOS, J. et al. Morphophysiological analysis of passion fruit plants from different propagation methods and planting spacing. **Revista Caatinga**, v. 29, n. 2, p. 305-312, 2016. ISSN 1983-2125.

SANTOS, K. C. et al. Sedative and anxiolytic effects of methanolic extract from the leaves of *Passiflora actinia*. **Brazilian Archives of Biology and Technology**, v. 49, n. 4, p. 565-573, 2006. ISSN 1516-8913.

SAXENA, M. et al. Phytochemistry of medicinal plants. **Journal of Pharmacognosy and Phytochemistry**, v. 1, n. 6, 2013. ISSN 2278-4136.

SCHLUETER, A.; JOHNSTON, C. Vitamin C: overview and update. **Journal of Evidence-Based Complementary & Alternative Medicine**, v. 16, n. 1, p. 49-57, 2011. ISSN 2156-5872.

SILVA, F.; EVANGELISTA, B.; MALAQUIAS, J. **Normal climatológica de 1974 a 2003 da estação principal da Embrapa Cerrados Planaltina, DF, Brazil.**: Embrapa Cerrados, 2014. ISBN ISSN 0103-4235. Disponível em: < <https://www.infoteca.cnptia.embrapa.br/bitstream/doc/999589/1/doc321.pdf> >.

SILVA, J. et al. Frutas nativas dos cerrados. **Brasília: Embrapa**, 1994.

SINGLETON, V. L.; ROSSI, J. A. Colorimetry of Total Phenolics with Phosphomolybdic-Phosphotungstic Acid Reagents. **American Journal of Enology and Viticulture**, v. 16, n. 3,

p. 144-158, 1965-01-01 00:00:00 1965. Disponível em: < <http://www.ajeonline.org/content/aje/16/3/144.full.pdf> >.

SIQUEIRA, E. M. et al. Brazilian savanna fruits contain higher bioactive compounds content and higher antioxidant activity relative to the conventional red delicious apple. **PLoS One**, v. 8, n. 8, p. e72826, 2013. ISSN 1932-6203 (Electronic) 1932-6203 (Linking). Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/23991156> >.

SIRO, I. et al. Functional food. Product development, marketing and consumer acceptance—A review. **Appetite**, v. 51, n. 3, p. 456-467, 2008. ISSN 0195-6663.

SIVAGAMI, G. et al. Role of hesperetin (a natural flavonoid) and its analogue on apoptosis in HT-29 human colon adenocarcinoma cell line—A comparative study. **Food and chemical toxicology**, v. 50, n. 3, p. 660-671, 2012. ISSN 0278-6915.

SONG, J. et al. Effect of grape bunch sunlight exposure and UV radiation on phenolics and volatile composition of *Vitis vinifera* L. cv. Pinot noir wine. **Food Chem**, v. 173, p. 424-31, Apr 15 2015. ISSN 0308-8146 (Print) 0308-8146 (Linking). Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/25466041> >.

SOUZA, L. et al. Evidence for the involvement of the serotonergic 5-HT 1A receptors in the antidepressant-like effect caused by hesperidin in mice. **Progress in Neuro-Psychopharmacology and Biological Psychiatry**, v. 40, p. 103-109, 2013. ISSN 0278-5846.

SOZO, J. S. Perfis de metabólitos secundários e atividade antioxidante de frutos, sementes e calos cultivados in vitro DE *Passiflora setacea* E *Passiflora tenuifila* (Passifloraceae). 2014.

STONE, H.; SIDEL, J. L. **Sensory Evaluation Practices**. Redwood City: Tragon Corporation, 2004.

SZAKALY, Z. et al. The influence of lifestyle on health behavior and preference for functional foods. **Appetite**, v. 58, n. 1, p. 406-13, Feb 2012. ISSN 1095-8304 (Electronic) 0195-6663 (Linking). Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/22119479> >.

TAIZ, L.; ZEIGER, E. **Fisiologia vegetal**. 5. Rio de Janeiro Ed. Artmed., 2013.

TAN, Z. et al. Purified vitexin compound 1 suppresses tumor growth and induces cell apoptosis in a mouse model of human choriocarcinoma. **International Journal of Gynecological Cancer**, v. 22, n. 3, p. 360-366, 2012. ISSN 1048-891X.

THEODORATOU, E. et al. Dietary flavonoids and the risk of colorectal cancer. **Cancer Epidemiology and Prevention Biomarkers**, v. 16, n. 4, p. 684-693, 2007. ISSN 1055-9965.

TILAHUN, S. et al. Review on factors affecting the quality and antioxidant properties of tomatoes. **African Journal of Biotechnology**, v. 16, n. 32, p. 1678-1687, 2017. ISSN 1684-5315.

TIWARI, B. et al. Ascorbic acid degradation kinetics of sonicated orange juice during storage and comparison with thermally pasteurised juice. **LWT-Food Science and Technology**, v. 42, n. 3, p. 700-704, 2009. ISSN 0023-6438.

TROSZYŃSKA, A. et al. Relationship between the sensory quality of lentil (*Lens culinaris*) sprouts and their phenolic constituents. **Food Research International**, v. 44, n. 10, p. 6, 2011.

UGUSMAN, A. et al. Flavonoids of *Piper sarmentosum* and its cytoprotective effects against oxidative stress. **EXCLI journal**, v. 11, p. 705, 2012.

UNICAMP. **Tabela brasileira de composição de alimentos**. ALIMENTAÇÃO., N. N. D. E. E. P. E.: Campinas: NEPA- UNICAMP. 4 2011.

VAN KLEEF, E.; VAN TRIJP, H.; LUNING, P. Consumer research in the early stages of new product development: a critical review of methods and techniques. **Food quality and preference**, v. 16, n. 3, p. 181-201, 2005. ISSN 0950-3293.

VARELA, P.; ARES, G. Sensory profiling, the blurred line between sensory and consumer science. A review of novel methods for product characterization. **Food Research International**, v. 48, n. 2, p. 893-908, 2012. ISSN 0963-9969.

VASCO, C.; RUALES, J.; KAMAL-ELDIN, A. Total phenolic compounds and antioxidant capacities of major fruits from Ecuador. **Food chemistry**, v. 111, n. 4, p. 816-823, 2008. ISSN 0308-8146.

VENTURA, E. E.; DAVIS, J. N.; GORAN, M. I. Sugar content of popular sweetened beverages based on objective laboratory analysis: focus on fructose content. **Obesity**, v. 19, n. 4, p. 868-874, 2011. ISSN 1930-739X.

VERBEKE, W. Consumer acceptance of functional foods: socio-demographic, cognitive and attitudinal determinants. **Food Quality and Preference**, v. 16, p. 12, 2005.

VERZERA, A. et al. Leaf removal and wine composition of *Vitis vinifera* L. cv. Nero d'Avola: the volatile aroma constituents. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, v. 96, n. 1, p. 150-159, 2016. ISSN 1097-0010.

VIANA, M. L.; COSTA, A. M.; CELESTINO, S. M. C. Informações para a composição de tabela nutricional da polpa do maracujá BRS Pérola do Cerrado. **Embrapa Cerrados-Boletim de Pesquisa e Desenvolvimento (INFOTECA-E)**, 2016.

VIANNA-SILVA, T. et al. Qualidade do suco de maracujá-amarelo em diferentes épocas de colheita. **Ciência e tecnologia de alimentos** v. 28, n. 3, p. 5, 2008. ISSN 0101-2061.

VIDAL, L. et al. Sensory characterization of the astringency of commercial Uruguayan Tannat wines. **Food Research International**, 2017. ISSN 0963-9969.

VIDAL, L. et al. Comparison of Correspondence Analysis based on Hellinger and chi-square distances to obtain sensory spaces from check-all-that-apply (CATA) questions. **Food Quality and Preference**, v. 45, p. 6, 2015.

VIEIRA, G. **Compostos fenólicos, atividade antioxidante e alcaloides em folhas e frutos (pericarpo, polpa e sementes) de Passifloras spp.** . p.81. 2013

VILLA NOVA, N. et al. Estimativa de graus - dia acumulados acima de qualquer temperatura-base, em função das temperaturas máxima e mínima. **Cardeno de Ciências da Terra.** , v. 30, 1972.

VISNAGRI, A. et al. Hesperidin, a flavanoglycone attenuates experimental diabetic neuropathy via modulation of cellular and biochemical marker to improve nerve functions. **Pharmaceutical biology**, v. 52, n. 7, p. 814-828, 2014. ISSN 1388-0209.

VOGT, T. Phenylpropanoid biosynthesis. **Molecular plant**, v. 3, n. 1, p. 2-20, 2010. ISSN 1674-2052.

WANG, X. et al. Phenolic compounds and antioxidant activity in red-fleshed apples. **Journal of Functional Foods**, 2014.

WHO, W. H. O. **Guideline: sugars intake for adults and children.** ORGANIZATION, W. H. Geneva 2015.

WONDRACEK, D. et al. Composição de carotenoides em passifloras do cerrado. **Revista Brasileira Fruticultura**, v. 33, n. 4, p. 6, 2011. Disponível em: < <http://www.scielo.br/pdf/rbf/v33n4/v33n4a22.pdf> >.

WOSCH, L. et al. Comparative study of Passiflora taxa leaves: II. A chromatographic profile. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v. 27, n. 1, p. 40-49, 2017. ISSN 0102-695X.

XU et al. Influence of growing season on phenolic compounds and antioxidant properties of grape berries from vines grown in subtropical climate. **Journal of agricultural and food chemistry**, v. 59, n. 4, p. 1078-1086, 2011. ISSN 0021-8561.

XUE, D. et al. The role of hesperetin on osteogenesis of human mesenchymal stem cells and its function in bone regeneration. **Oncotarget**, v. 8, n. 13, p. 21031, 2017.

YANG, S. et al. The Novel p53-Dependent Metastatic and Apoptotic Pathway Induced by Vitexin in Human Oral Cancer OC2 Cells. **Phytotherapy Research**, v. 27, n. 8, p. 1154-1161, 2013. ISSN 1099-1573.

YANG, Y. et al. Hesperetin: an inhibitor of the transforming growth factor- β (TGF- β) signaling pathway. **European journal of medicinal chemistry**, v. 58, p. 390-395, 2012. ISSN 0223-5234.

ZARROUK, O. et al. Impact of irrigation regime on berry development and flavonoids composition in Aragonez (Syn. Tempranillo) grapevine. **Agricultural water management**, v. 114, p. 18-29, 2012. ISSN 0378-3774.

ZERVOUDAKIS, G. et al. Influence of Light Intensity on Growth and Physiological Characteristics of Common Sage (*Salvia officinalis* L.) **Brazilian archives of biology and technology**, v. 55, n. 1, p. 6, 2012. ISSN 1516-8913.

ZHANG, S. et al. Genetic analysis of fruit shape traits at different maturation stages in sponge gourd. **J Zhejiang Univ Sci B**, v. 8, n. 5, p. 338-44, May 2007. ISSN 1673-1581 (Print) 1673-1581 (Linking). Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/17542062> >.

ZHOU, Y. et al. Vitexins, nature-derived lignan compounds, induce apoptosis and suppress tumor growth. **Clinical Cancer Research**, v. 15, n. 16, p. 5161-5169, 2009. ISSN 1078-0432.

ZORATTI, L. et al. Light-controlled flavonoid biosynthesis in fruits. **Frontiers in plant science**, v. 5, p. 534, 2014. ISSN 1664-462X.