



**UNIVERSIDADE FEDERAL DE CAMPINA GRANDE
CENTRO DE CIÊNCIAS E TECNOLOGIA AGROALIMENTAR
UNIDADE ACADÊMICA DE TECNOLOGIA DE ALIMENTOS**

ELNY ALVES ONIAS

**ESTUDO DA CORRELAÇÃO ENTRE O POTENCIAL ANTIOXIDANTE E
COMPOSTOS BIOATIVOS DOS FRUTOS DA ROMÃZEIRA**

POMBAL - PB

2016

ELNY ALVES ONIAS

**ESTUDO DA CORRELAÇÃO ENTRE O POTENCIAL ANTIOXIDANTE E
COMPOSTOS BIOATIVOS DOS FRUTOS DA ROMÃZEIRA**

Trabalho de conclusão de curso
apresentado à Coordenação do Curso de
Engenharia de Alimentos da Universidade
Federal de Campina Grande, como um
dos requisitos para obtenção do grau de
Bacharel em Engenharia de Alimentos.

Orientadora: Prof (a): Dra Railene Hérica Carlos da Rocha Araújo

Co-Orientador : Prof Dr Osvaldo Soares da Silva

POMBAL – PB

2016

FICHA CATALOGRÁFICA ELABORADA PELA BIBLIOTECA CENTRAL DA UFCG

- O58e Onias, Elny Alves.
Estudo da correlação entre o potencial antioxidante e compostos bioativos dos frutos da romãzeira / Elny Alves Onias. – Pombal, 2016.
43 f. : il. color.
- Trabalho de Conclusão de Curso (Bacharel em Engenharia de Alimentos) - Universidade Federal de Campina Grande, Centro de Ciências e Tecnologia Agroalimentar.
"Orientação: Prof^ª. Dr^ª Railene Hérica Carlos Rocha Araújo, Prof. Dr Osvaldo Soares da Silva".
Referências.
1. *Punica Granatum* (Romã).
 2. Estádios de Maturação.
 3. Capacidade Antioxidante. I. Araújo, Railene Hérica Carlos Rocha. II. Silva, Osvaldo Soares da. III. Título.

CDU 631.53.02(043)

ELNY ALVES ONIAS

**ESTUDO DA CORRELAÇÃO ENTRE O POTENCIAL ANTIOXIDANTE E
COMPOSTOS BIOATIVOS DOS FRUTOS DA ROMÃZEIRA**

Trabalho de conclusão de curso apresentado à
Coordenação do Curso de Engenharia de
Alimentos da Universidade Federal de Campina
Grande, como um dos requisitos para obtenção
do grau de Bacharel em Engenharia de
Alimentos.

Monografia aprovada em: _____ / _____ de 2016

Banca examinadora:

Prof. Dr. Osvaldo Soares da Silva-UATA-CCTA-UFCG
Presidente

Prof^a. Dra. Marinês Pereira Bomfim- UAGRA-CCTA-UFCG
Examinadora Interna

Tádria Cristiane de Sousa Fortunato/Mestranda em Horticultura Tropical- (CCTA-
UFCG)
Examinadora Externa

Dedico este trabalho a minha mãe Aurimar (*in memoriam*),
por todo Amor, Dedicção e Ensinamentos.

AGRADECIMENTOS

À Deus, criador de todas as coisas, pelo dom da vida, por está sempre ao meu lado, me guiando e me fortalecendo nos momentos mais difíceis. Agradeço por todas as bênçãos derramadas em minha vida e pela oportunidade de concretização deste sonho.

À minha mãe Aurimar (*in memoriam*), por todo amor e ensinamentos que sempre me dedicou e que construíram o meu saber. Este sonho também era seu e sei que daí do céu, sempre intercedeu por mim e por minhas vitórias.

Ao meu pai Cícero, aos meus irmãos: Elma, Eraldo e Eliane por acreditarem no meu potencial e me incentivarem a lutar pelos meus objetivos. Ao meu sobrinho Aquilles Gabriel, por me alegrar, mesmo nos dias mais difíceis dessa caminhada e aos meus cunhados Ocinaldo Ferreira, Paulo Ricele e Camila Gomes pelas palavras de apoio.

A Universidade Federal de Campina Grande pela realização do curso de Engenharia de Alimentos.

Aos professores da Unidade Acadêmica de Tecnologia de Alimentos e a todos os servidores técnicos e administrativos da UFCG.

À Fazenda Águas de Tamanduá por toda contribuição na realização deste trabalho.

À minha orientadora Dra Railene Hérica Carlos Rocha Araújo por toda dedicação, incentivo e ensinamentos transmitidos.

Aos membros da banca examinadora Osvaldo Soares da Silva, Marinês Pereira Bomfim e Tádria Cristiane Fortunato por suas contribuições para o aperfeiçoamento deste trabalho. Meu agradecimento ao professor Osvaldo por ter aceitado presidir a banca na ausência da minha orientadora.

Aos meus colegas de curso por todos os momentos vividos juntos e pelas trocas de conhecimentos.

Aos amigos do grupo de pesquisa George Alves, Agda Forte, Wellington Guedes e em especial Tádria Cristiane pela valorosa contribuição na realização deste trabalho.

A Júlia Medeiros pelos ensinamentos em algumas análises deste trabalho.

As técnicas dos Laboratórios de Tecnologia de Produtos Hortícolas e Análise de Alimentos do CCTA, Wélida e Fabíola.

Enfim a todos que contribuíram direta ou indiretamente para a realização deste sonho.

ONIAS, E. A. **Estudo da correlação entre o potencial antioxidante e compostos bioativos dos frutos da romãzeira**. 2016. 43f. Trabalho de Graduação: Curso de Engenharia de Alimentos-Centro de Ciências e Tecnologia Agroalimentar, UFCG-Pombal-PB, 2016.

RESUMO

Estudos recentes têm revelado que os estádios de maturação influenciam na capacidade antioxidante e em outras propriedades físico-químicas do suco da romã. Este trabalho teve como objetivo estudar a capacidade antioxidante do arilo da romã (cv. Molar) e sua correlação com os compostos bioativos em diferentes estádios de desenvolvimento do fruto. Para a realização do trabalho foram marcadas flores de plantas adultas, vigorosas e sadias de um pomar comercial localizado na Fazenda Águas de Tamanduá, em Sousa-PB. O Delineamento utilizado foi o Inteiramente ao Acaso (DIC), sendo os tratamentos constituídos pelos estádios de desenvolvimento (60, 70, 80, 90 e 100) dias a partir da antese, com quatro repetições compostas por cinco frutos, totalizando vinte frutos por tratamento. Em cada época determinada, os frutos foram colhidos e transportados para o Laboratório de Análises de Alimentos da Universidade Federal de Campina Grande (UFCG), *Campus* de Pombal-PB, onde foi feita a extração do suco. Posteriormente foram realizadas as análises de pH, Sólidos Solúveis (SS), Açúcares Totais (AT), Vitamina C, Antocianinas e a Capacidade Antioxidante do suco através dos métodos DPPH e ABTS. Os dados foram submetidos à análise de variância ($p \leq 0,05$), seguida de regressão e correlação de Pearson. Verificou-se variação no pH entre 2,93 e 3,15. Constatou-se aumento no teor de SS durante os estádios de desenvolvimento, tendo seu maior valor aos 100 dias com 14,04%. Os Açúcares Totais tiveram aumento de 12,08 a 16,70 mg/100mL para frutos com 60 e 90 dias, respectivamente. A Vitamina C apresentou aumento na sua concentração com valor máximo aos 90 dias (10,50% de ácido ascórbico) e um decréscimo aos 100 dias. Constatou-se também aumento notável no teor de Antocianinas dos 60 aos 90 dias, seguido de um decréscimo aos 100 dias de desenvolvimento do fruto. A Capacidade Antioxidante dos frutos, determinada pelo método DPPH, apresentou inicialmente valor de 1407,17 g suco/g DPPH aos 60 dias, seguido de aumento progressivo, chegando aos 90 dias, com valor de 3501,00 g suco /g DPPH, com um pequeno decréscimo aos 100 dias de

desenvolvimento. O método ABTS, apresentou comportamento semelhante ao do DPPH. Inicialmente verificou-se menor capacidade antioxidante, ocorrendo aumento com o desenvolvimento dos frutos. Concluiu-se com o estudo que há mudanças nas características físico-química da romã (cv. Molar) nos diferentes estádios de desenvolvimento do fruto, sendo que aos 90 dias, os frutos apresentaram os melhores atributos de qualidade na composição química do suco, com os maiores valores de pH, Açúcares Totais, Vitamina C, Antocianinas e Capacidade Antioxidante. As maiores correlações entre a Capacidade Antioxidante determinada pelo método DPPH foram verificada aos 60 dias, com a variável Açúcares Totais, com coeficiente de correlação de Pearson $r = 0,994$, já para a Capacidade Antioxidante determinada pelo método ABTS, a maior correlação foi aos 80 dias, também com a variável Açúcares Totais, porém com coeficiente de correlação de Pearson negativo $r = - 0,996$.

Palavras-chave: *Punica granatum*, estádios de maturação e capacidade antioxidante.

ONIAS, E. A. **Correlation between the antioxidant potential and bioactive compounds of the fruit of the pomegranate**. 2016. 43f. Graduate work: Engineering Course Food Central Science and Technology Agrifood, UFCG - Pombal -PB, 2016.

ABSTRACT

Recent studies have revealed that the maturation stages influence the antioxidant capacity and other physicochemical properties of pomegranate juice. This work aimed to study the antioxidant capacity of pomegranate aril of (cv. Molar) and its correlation with the bioactive compounds in various stages of fruit development. To carry out the work were marked flowers of adult plants, vigorous and healthy from a commercial orchard located in Anteat Water Farm in Sousa-PB. The design was completely randomized (DIC), the treatments consist of the development stages (60, 70, 80, 90 and 100) days from anthesis, with four replications composed of five fruits, totaling twenty fruits per treatment . In each particular time, fruits were harvested and transported to the Food Analysis Laboratory of the Federal University of Campina Grande (UFCG), Campus de Pombal-PB, where the extraction of the juice was made. Subsequently they were performed pH, soluble solids (SS), Total Sugars (AT), Vitamin C, anthocyanins and antioxidant capacity of juice through the DPPH and ABTS methods. Data were submitted to analysis of variance ($p = 0.05$), followed by regression and Pearson correlation. There was variation in pH between 2.93 and 3.15. It found an increase in SS content during the development stages, and its greatest value at 100 days with 14.04%. The Total Sugars had increased from 12.08 to 16.70 mg / 100 ml for fruit with 60 and 90 days, respectively. Vitamin C had an increase in their concentration with maximum at 90 days (10.50% ascorbic acid) and a decrease to 100 days. It was also noticeable increase in anthocyanins content of 60 to 90 days, followed by a decrease after 100 days of fruit development. The antioxidant capacity of fruits determined by DPPH method, initially showed a value of 1407.17 g juice / g DPPH at 60 days, followed by progressive increase, reaching 90 days, with a value of 3501.00 g juice / g DPPH with a small decrease in 100 days of development. The ABTS method, showed behavior similar to DPPH. Initially there was less antioxidant capacity, with increased with fruit development. Concluded with the study that there are changes in the physical and chemical characteristics of the

pomegranate (cv. Molar) in different stages of fruit development, and at 90 days, the fruits showed the best quality attributes in the chemical composition of the juice with the highest pH, Total sugars, vitamin C, anthocyanins and antioxidant capacity. The highest correlation between the antioxidant capacity determined by DPPH method were verified at 60 days, with the variable Total Sugars, with a correlation coefficient of Pearson $r = 0.994$, as for the antioxidant capacity determined by the ABTS method, the highest correlation was at 80 days also with the variable Total Sugars, but with negative Pearson correlation coefficient $r = - 0.996$.

Keywords: Punica granatum, maturity stages and antioxidant capacity.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1: Temperatura, umidade relativa e precipitação do ar durante os meses de setembro a dezembro de 2014 e de janeiro a abril de 2015.....	25
Figura 2: Marcação das flores por meio de fitas, Sousa-PB, 2014.....	26
Figura 3: Frutos da romãzeira (cv.Molar) aos 60, 70, 80, 90 e 100 dias, produzidos na Fazenda Águas de Tamanduá, Várzeas de Sousa-PB.....	26
Figura 4: Lavagem dos frutos (A), extração do suco (B)	27

LISTA DE TABELAS

- Tabela 1:** Resumo da análise de variância para as variáveis pH, Sólidos Solúveis (SS), Açúcares Totais (AT), Vitamina C, Antocianinas e Capacidade Antioxidante pelos métodos DPPH e ABTS em romã (cv. Molar), durante o desenvolvimento do fruto.....31
- Tabela 2.** Médias observadas das variáveis pH, Sólidos Solúveis (SS), Açúcares Totais, (AT), Vitamina C e Antocianinas do suco de romã (cv. Molar) em diferentes épocas de colheita do fruto.....34
- Tabela 3.** Coeficiente de Correlação (r) entre o potencial antioxidante do suco de romã (cv. Molar) determinado pelos métodos DPPH e ABTS com as variáveis pH, Sólidos Solúveis, Açúcares Totais, Vitamina C e Antocianinas.
.....36

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	14
2 OBJETIVOS	16
2.1 Objetivo Geral	16
2.2 Objetivos Específicos	16
3 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	17
3.1 Aspectos gerais da romã	17
3.2 Utilidades do fruto da romãzeira	19
3.3 Maturação da romã	19
3.4 Atividade antioxidante	21
4 MATERIAL E MÉTODOS	24
4.1 Caracterização da área de estudo	24
4.2 Delineamento experimental	25
4.3 Condução do experimento	25
4.4 Características avaliadas	27
4.4.1 Potencial Hidrogeniônico (pH)	27
4.4.2 Sólidos Solúveis (SS)	27
4.4.3 Açúcares Totais	28
4.4.4 Vitamina C	28
4.4.5 Antocianinas	28
4.4.6 Capacidade Antioxidante pelo método DPPH	28
4.4.7 Capacidade Antioxidante pelo método do radical ABTS	29
4.4.8 Análise Estatística	30
5 RESULTADOS E DISCUSSÃO	31
6 CONCLUSÃO	37
7 REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS	38

1 INTRODUÇÃO

Evidências recentes têm demonstrado que dietas com elevado conteúdo de vegetais e frutas podem reduzir o risco de inúmeras doenças. Os efeitos benéficos desses alimentos têm sido associados à presença de substâncias antioxidantes, justificando-se assim a importância do estudo desses agentes antioxidantes que estão relacionados à frequente associação entre danos teciduais e liberação de radicais livres (MALCHER, 2011).

A romã, sucos e extratos, estão sendo amplamente promovidos para os consumidores como um alimento capaz de combater doenças. A fruta, que tem sido consumida e utilizada como alimento funcional no Oriente Médio há milhares de anos e ganhou popularidade recente nos Estados Unidos (JOHANNINGSMEIER; HARRIS, 2011). A polpa e as sementes da romã apresentam potencial antioxidante, verificado pela presença de compostos com capacidade redutora, identificados pela cromatografia em camada delgada como compostos fenólicos (JARDINI, MANCINI FILHO, 2007).

Durante a maturação do fruto de romã, mudanças significativas em ácidos orgânicos, açúcares e composição fenólica foram relatados por vários autores (POYRAZOGLU ET AL., 2002; AL-MAIMAN, AHMAD, 2002; MIRDEHGHAN E RAHEMI, 2007). Segundo os autores, propriedades químicas, antioxidantes e compostos fenólicos do fruto também são influenciados pela cultivar, região e grau de maturação no momento da colheita.

A maturação ideal é crucial para manter alto teor de Açúcares Solúveis (SS), boa cor e qualidade global dos frutos. A cor externa da casca dos frutos não é um bom indicador do grau de amadurecimento ou disponibilidade para o consumo da romã, portanto, é imperativo que o estágio de maturação dos frutos de romã seja avaliado com base em uma combinação de parâmetros que determinam os seus atributos físicos e químicos (HOLLAND et al., 2009).

Estudos recentes têm mostrado que o estágio de maturação dos frutos pode influenciar a atividade antioxidante e outras propriedades físico-químicas da romã como pH, Sólidos Solúveis (SS), Açúcares Totais (AT), Acidez Titulável, Fenólicos Totais e Antocianinas (AL-MAIMAN, AHMAD, 2002; OPARA et al., 2009, SHWARTZ et al., 2009).

Recentemente, o cultivo comercial da romã tem despertado o interesse de produtores de fruteiras no nordeste brasileiro. Um dos maiores pomares instalados com a cultura da romã no Brasil está localizado, na fazenda Águas de Tamanduá, situada nas Várzeas de Sousa-PB, com cerca de 70ha plantados, e quatro anos de instalação. A expansão da área cultivada tem em vista a demanda pelo produto por parte da indústria farmacêutica e a visão de ampliar o uso do fruto para comercialização na forma *in natura* ou industrializado, como suco concentrado.

No entanto, para o estabelecimento e manejo da cultura da romã em extensas áreas de produção é necessário o conhecimento do comportamento da espécie, principalmente quando a finalidade é a comercialização de frutos *in natura*, conforme as exigências do mercado (Silva, 2013), porém até o momento nenhuma pesquisa foi desenvolvida com a romã produzida no semiárido paraibano, relacionada aos compostos bioativos e ao potencial antioxidante do fruto em diferentes estádios de desenvolvimento.

O estudo nessa área é de grande importância por caracterizar a qualidade do fruto durante o seu desenvolvimento, de modo a contribuir para o avanço do setor produtivo e o acesso ao potencial fitoterápico da espécie.

2 OBJETIVOS

2.1 Objetivo Geral

O presente trabalho teve como objetivo estudar a capacidade antioxidante do suco da romã (cv. Molar) e sua correlação com os compostos bioativos em diferentes estádios de maturação do fruto.

2.2 Objetivos Específicos

Analisar os componentes bioativos do suco da romã, tais como pH, Sólidos Solúveis, Açúcares Totais, Vitamina C e Antocianinas.

Determinar a Capacidade Antioxidante do suco e sua correlação com os componentes bioativos quantificados durante as fases fenológicas de desenvolvimento do fruto.

3 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

3.1 Aspectos gerais da romã

A romãzeira (*Punica granatum* L.), pertencente à família Punicaceae, é um arbusto lenhoso, ramificado com múltiplas hastes, que geralmente cresce 1,8-4,6m de altura. As folhas são caducifólias brilhante, medindo cerca de 7cm de comprimento. Apresenta flores em forma de trompete vermelho-alaranjado com pétalas eriçadas, com aproximadamente 5cm de comprimento (GUNJAN,2012).

Os frutos da romãzeira são esféricos, com cerca de 5-7,6cm de diâmetro. Apresenta muitas sementes em camadas, as quais se acham envolvidas em arilo de cor rósea ou carmim vivo (Lorenzi et al., 2006), possuem baixa atividade respiratória e um padrão respiratório não climatérico (Crisosto et al., 1996) e, portanto, não pode continuar o processo de amadurecimento após destacamento da planta-mãe (Kader, 2006), são ricos em ácidos orgânicos, açúcares, vitaminas, polissacarídeos e polifenóis (AL-MAIMAN, AHMAD, 2002).

Nativa da região que abrange desde o Irã até o Himalaia, a Noroeste da Índia, tem sido cultivada há muito tempo por toda a região Mediterrânea da Ásia, América, África e Europa, sendo o seu cultivo expandido extensivamente nas regiões áridas e semiáridas de todo o Mundo (AL-MAIMAN, AHMAD, 2002; PEDRIALI, 2010).

A área de cultivo de romã no mundo é estimada em mais de 300.000 hectares, dos quais mais de 50% estão localizados na Índia, China e Irã (MORENO, 2012). Na Espanha, a romã 'Molar de Elche' é a mais popular, destacando-se em relação às demais variedades e sendo, a mais cultivada, representando 96% do volume produzido neste país (MARM, 2010). Seus frutos são de tamanho médio, com peso médio de 262 g, cor rosa ou vermelho brilhante, resistente ao transporte, com sementes abundantes e rendimento de 72,7% do seu suco, possui baixa acidez e baixo conteúdo de fibras nos arilos das sementes (USEP, 2013).

No Brasil, o cultivo comercial da romã ocorre nos estados de São Paulo, Bahia, Paraíba e Ceará, cuja melhor época para comercialização do fruto *in natura*, compreende ao período de novembro a dezembro, em que a demanda chega a aumentar até 30%, e o preço, até 28%, por quilo (CEAGESP, 2010). Recentemente, o cultivo comercial da romã tem despertado o interesse de produtores de fruteiras no nordeste brasileiro. Um dos maiores pomares instalados com a cultura da romã no

Brasil está localizado, na fazenda Águas de Tamanduá, situada nas Várzeas de Sousa-PB, (“longitude 38°13’41” e “latitude 06°45’33””) (MOREIRA et al., 2015).

Embora os parâmetros de qualidade, tais como tamanho dos frutos, forma e coloração da casca sejam atributos externos importantes para a classificação e marketing, estas características não indicam o grau de amadurecimento ou disponibilidade dos arilos para consumo (KADER, 2006; HOLLAND ET AL., 2009; FAWOLE E OPARA 2013 a). Desta forma, índices adicionais de maturidade, tais como cor do arilo, sólidos solúveis totais e acidez são comumente usados na avaliação da qualidade de frutos para atender às exigências de mercado (KADER, 2006; MARTINEZ et al., 2006).

Estudos sobre o fruto de romãzeira no Brasil ainda são escassos, porém, pesquisas recentes foram realizadas com romã (cv. Molar), produzida em sistema orgânico de produção na Fazenda Águas de Tamanduá, localizada nas Várzeas de Sousa-PB.

Silva (2013) ao caracterizar a qualidade do fruto e a potencialidade do mesmo para o armazenamento constatou que a romã 'Molar' produzida em sistema orgânico no semiárido paraibano é classificada como doce, com baixa acidez, inferior a 0,75% de ácido cítrico e sólido solúveis entre 12 e 15%, podendo ser conservada até seis dias à 27°C e 28% UR para a comercialização *in natura*, destacando-se a importância destes elementos para a saúde humana como um alimento funcional. Quanto ao tamanho, a romã é classificada como pequena, com peso abaixo de 200g e menos de 74 mm de diâmetro.

Moreira (2014) verificou que sob condições de refrigeração, a romã cv. Molar pode permanecer armazenada a 10°C por 36 dias seguidos de ‘*shelf life*’ de dois dias a 24°C, sem prejuízos nos atributos de qualidade biométricos, visuais e físico-químicos, para a comercialização *in natura*.

De acordo com Gomes (2015), a romã cultivada no sertão paraibano em sistema orgânico caracteriza-se por apresentar um crescimento sigmoidal duplo, apresentando quatro fases de desenvolvimento distintas. Durante a fase I há ascensão do crescimento do fruto. Na fase II ocorre uma estabilidade no crescimento do fruto. Já na fase III há uma retomada na ascensão do crescimento do fruto, atingindo os valores mais elevados da curva sigmoidal dupla. Na fase IV trata-se de uma fase de declínio que pode culminar com o início da senescência do fruto.

3.2 Utilidades do fruto da romãzeira

Devido à conscientização global sobre os potenciais benefícios a saúde derivada do consumo do fruto de romã, houve um aumento considerável na agricultura comercial da romãzeira em todo o mundo (HOLLAND ET AL., 2009). A demanda pelo fruto de romã vem se expandindo por parte das indústrias de alimentos, farmacêutica e de cosméticos, despertando também o interesse de produtores e comerciantes para comercialização do fruto na forma *in natura*. (JADON et al., 2012).

Por suas propriedades sensoriais e nutricionais o fruto da romãzeira é altamente valorizado (Lopez-Rubira et al., 2005), sua porção comestível (arilo) além de consumido fresco pode ser usado para a preparação de sucos frescos, bebidas enlatadas, geléia, doce entre outros (OPARA et al., . 2009).

Pesquisas têm relatado o conteúdo e a composição dos principais componentes medicinais em várias cultivares de romã. Estudos farmacológicos revelaram que a romã têm demonstrado propriedades antioxidante (Elfalleh et al., 2011), atividade antitumoral (Oliveira et al., 2010); antimicrobianas, odontológicas, antifúngicas, quimioprotetoras, entre outras propriedades (DEGÁSPARI, DUTRA, 2011). Estas propriedades têm sido associadas a uma composição única de polifenóis que foram relatados por apresentar forte capacidade antioxidante. Dentre estes, as antocianinas do fruto tem revelado capacidade antioxidante maior do que a vitamina E (α -tocoferol), vitamina C (ácido ascórbico) e β - caroteno (VIUDA-MARTOS et al., 2010; FAWOLE et al., 2012).

3.3 Maturação da romã

As transformações morfológicas, bioquímicas e físico-químicas que acontecem em cada uma das fases do desenvolvimento e maturação dos frutos, resultam em modificações em características dos mesmos, notadamente no tamanho, na forma, na cor, na textura, no sabor e no aroma (CHITARRA; CHITARRA, 2005).

Por se tratar de um fruto não climatério, a colheita da romã deve ser realizada quando o fruto atinge a maturidade plena, período que reúne maiores características de qualidade. Se o período de colheita for antecipado, os frutos serão de baixa qualidade, porque não desenvolveram a cor, o aroma e o sabor característicos. Se

for tardia, serão obtidos frutos mais susceptíveis a doenças e sujeitos a rápida deterioração em condições de armazenamento (SERRANO, 2012).

Fawole, Opara (2013f), ao avaliarem as cultivares 'Bhagwa', e 'Ruby' confirmaram o padrão respiratório não climatérico da romã. Os mesmos autores em estudos realizados na África do Sul com romã (cv. Ruby) em cinco estádios de maturação, estabelecidos entre 54 e 139 dias após a antese, indicaram grandes mudanças na composição do fruto durante o desenvolvimento. Relataram aumento significativo nos sólidos solúveis, açúcares (glicose e frutose) e nas antocianinas, porém, um significativo declínio na acidez titulável, ácidos orgânicos e nos fenólicos totais (FAWOLE; OPARA, 2013f).

Durante a maturação há um acúmulo de açúcares e uma redução na acidez total (KULKARNI E ARADHYA, 2005). Os principais açúcares são frutose e glicose, cujas concentrações no momento da colheita variam entre 3 e 8% dependendo da cultivar, com concentrações de sólidos solúveis variando de 10 a 18%. Fawole, Opara (2013b) relataram aumento significativo nas concentrações de glicose e frutose durante a maturação dos frutos 'Bhagwa' e 'Ruby', cultivados no sul da África, com razões de glicose para frutose (G / F) que varia entre 0,67-0,85 e 0,72-0,86, respectivamente.

Dependendo da variedade de romã, a composição de ácidos orgânicos varia, sendo que em variedades ácidas, a acidez varia de 2 a 2,5%, com predominância do ácido cítrico, enquanto que em variedades doces, o teor de acidez varia de 0,2 a 0,4%, possuindo quantidades semelhantes de ácido cítrico e málico, ou em alguns casos, predominância do ácido málico (OZGEN ET AL., 2008). Fawole., et al (2013a), (2013b) estudaram duas cultivares comerciais cultivadas nas mesmas condições na África do Sul, e verificaram que a acidez titulável diminuiu de 0,39-0,31% entre 54 e 139 dias de desenvolvimento do fruto para a cultivar 'Ruby', enquanto que para a cultivar 'Bhagwa', diminuiu de 0,62-0,38% entre 54 e 165 dias de desenvolvimento.

Durante os primeiros estágios de desenvolvimento dos frutos, ocorre uma diminuição na vitamina C, enquanto nos estágios finais de maturação se mantém mais ou menos estável, com valores entre 10 e 36 mg/100g, dependendo da variedade (KULKARNI E ARADHYA, 2005; SAYYARI ET AL., 2010). Kulkarni e Aradhy, 2005 verificaram que para cultivar 'Ganesh', a concentração de ácido ascórbico diminuiu rapidamente no suco de romã durante estágios iniciais de

maturação, sendo essa diminuição gradativa até a maturação avançada dos frutos. Uma tendência semelhante foi reportada por Al-Maiman e Ahmad (2002) para a cultivar 'Taifi'.

3.4 Atividade antioxidante

Os frutos de romã (*Punica granatum L.*) são uma boa fonte de compostos bioativos, dentre estes, os fenólicos, como flavonoides (antocianinas, flavonóis), taninos condensados (proantocianidinas) e taninos hidrolisáveis (elagitaninos e galotaninos) (GIL et al., 2000; LI et al., 2006). Estes compostos desempenham um papel significativo na cor da fruta, sabor, textura e na atividade antioxidante (HERNANDEZ et al., 1999).

Os antioxidantes são referidos como compostos não nutritivos que são produzidos pelas plantas como meio de proteção contra agentes patogênicos e principalmente a radiação ultravioleta (WINK, 2010). A capacidade antioxidante está relacionada a qualquer substância capaz de retardar ou impedir danos devido à oxidação, estando em menor concentração, quando comparado com o agente oxidante (SILVA et al., 2010). Os efeitos da defesa de antioxidantes naturais em frutas e vegetais estão relacionados a três grandes grupos de compostos bioativos que são as vitaminas, os compostos fenólicos e os carotenoides (HALLIWELL, 1996).

Particularmente em frutas esses antioxidantes naturais vêm ganhando interesse crescente entre os consumidores e a comunidade científica, justificado pelos resultados de estudos que têm indicado que o consumo frequente dos mesmos está associado a um menor risco de doenças como a cardiovascular e o câncer (RENAUD et al., 1998 ; TEMPLE, 2000).

As antocianinas são geralmente os compostos fenólicos predominantes na romã. Além de atuarem como um dos mais importantes antioxidantes naturais são também responsáveis pela intensa coloração vermelha do suco de romã, a qual é um dos parâmetros de qualidade que mais influenciam na aceitação sensorial dos consumidores. Fatores ambientais, agronômicos e a espécie podem influenciar o teor intrínseco de antocianinas (PATRAS et al., 2010).

Durante a maturação do fruto da romã "Bhagwa", Fawole e Opara (2013c) relataram que os níveis de antioxidantes variaram consideravelmente entre os

estádios de maturação de frutas e cultivares. Considerando as mudanças quantitativas no conteúdo dos compostos bioativos totais, os frutos verdes foram relatados por apresentarem os mais altos níveis de bioatividade, que diminuíram na fase semi-maduros, e permaneceram relativamente inalterados ao final da colheita (DRAGOVIC-UZELAC et al., 2007).

Ozgen et al., (2008) estudaram arilos de seis cultivares de romã (*Punica granatum L.*) obtidas de diferentes localidades da região mediterrânea da Turquia, quanto as suas propriedades antioxidantes e químicas. A capacidade antioxidantes de arilos foram determinados pelos métodos (FRAP) e o (TEAC). Verificaram que os níveis de antioxidantes (FRAP) e (TEAC), os fenóis totais e as antocianinas totais foram fortemente correlacionados ($r = 0,82-0,96$).

Borochoy-Neori et al., (2009) analisaram frutos de diversas variedades de romã (*Punica granatum L.*) quanto ao teor de compostos fenólicos solúveis, atividade antioxidante, concentração de sólidos solúveis, acidez e intensidade de cor vermelha. Como resultados, reportaram que em cultivares de diferentes propriedades sensoriais e época de colheita, os arilos dos frutos de estágio de maturação mais avançado continham compostos fenólicos mais solúveis e exibiram uma elevada atividade antioxidante, conforme medido pelo ensaio da capacidade de redução do ferro (FRAP). A análise de regressão linear múltipla indicou que a capacidade antioxidante do suco estava linearmente correlacionada com o conteúdo de compostos fenólicos solúveis ($r=0,98$), porém não apresentou relação com a intensidade da cor vermelha dos arilos ($r=0,38$).

Kar et al., (2011) ao quantificar a composição química, de micronutrientes cátions, e a capacidade antioxidante de 9 ecótipos de romãs tunisianos verificaram que o ecótipo TN1 apresentou 7 vezes maior atividade antioxidante do que a do ecótipo GB 4, sendo assim o suco do ecótipo TN 1 podem ser considerados potencialmente útil como uma fonte de antioxidantes naturais. Foi registrada alta correlação ($r=0,80$) entre a capacidade antioxidante e conteúdo de antocianinas, sugerindo que as mesmas são o principal contribuinte na capacidade antioxidante das romãs estudadas.

Bopitiya, Madhujith (2012) ao estudarem a capacidade antioxidante das cultivares de romã Nayana, Daya, Nimali, pelos métodos DPPH e ABTS, obtiveram valores de IC50 que variaram de 0,182 mg/mL a 0,446 mg/mL com a cultivar Nayana mostrando a atividade antioxidante mais elevada, enquanto que para o ABTS os

valores variaram entre 93,1% e 72,73%, com o valor mais elevado observado também na cultivar Nayana. A capacidade antioxidante medida pelos métodos ABTS e DPPH não tiveram correlação com os compostos fenólicos totais ($0,21 \leq r \leq 0,68$). Kriengsak et al., (2006) não relataram correlação entre os compostos fenólicos e a capacidade antioxidante, conforme determinado pelos métodos DPPH e ABTS em pêssegos, ameixas e nectarinas.

Fawole; Opara (2013a) ao investigar as propriedades antioxidantes de frutos de romã (cv. Ruby) em cinco estádios de maturação distintos entre 54 e 139 dias após a plena floração (DAPF), medida pelos métodos DPPH e FRAP, estabeleceram que houve uma diminuição na capacidade antioxidante (para ambos os ensaios DPPH e FRAP) em suco de romã "Ruby", na medida em que os frutos avançaram de estádios S1 a S4. A redução da atividade antioxidante durante o desenvolvimento do fruto romã pode ser associada a uma diminuição aparente na quantidade de polifenóis no suco (Gil et al., 2000 e Fisher et al., 2011). Foram registradas correlações positivas e satisfatórias entre os fenólicos totais e capacidade antioxidante (FRAP: $r = 0,963$; DPPH: $r = 0,953$).

Fawole, Opara (2013c) relataram que a capacidade antioxidante total da romã (cv. 'Bhagwa') durante a maturação, através dos métodos DPPH e FRAP diminuiu durante a maturação dos frutos, o que sugere uma diminuição no poder antioxidante do suco da fruta. Foram observadas correlações entre a capacidade antioxidante medida pelos métodos DPPH ($r = 0,99$) e FRAP ($r = 0,96$) e os fenólicos totais.

Maphahlele et al., (2014) estudaram o efeito da maturação sobre o conteúdo pós-colheita de flavonoides, ácidos fenólicos, vitamina C e capacidade antioxidante do suco de romã (cv. Wonderful), determinada pelos métodos da Atividade de Eliminação de Radicais (RSA) e pelo método (FRAP) e relataram que a maturação afetou as propriedades antioxidantes dos frutos de romãs. Neste estudo, o teor de fenólicos totais diminuíram com o avanço da maturação dos frutos, a antocianina total, os flavonoides e vitamina C aumentaram significativamente ($P < 0,01$). Foi relatada correlação significativa e negativa ($r = -0,64$) entre o teor de fenólicos totais e atividade antioxidante no ensaio FRAP.

4 MATERIAL E MÉTODOS

4.1 Caracterização da área de estudo

A pesquisa foi realizada em um pomar de romã, variedade Molar, pertencente à Fazenda Águas de Tamanduá, localizada nas Várzeas de Sousa, PB, (longitude 38°13'41" e latitude 06°45'33") (Moreira et al., 2015), distante 30 km do município de Pombal- PB, cuja produção é certificada pela Associação de Certificação Instituto Biodinâmico (IBD), Lei 10.831 (BRASIL, 2003).

A área possui seis anos e 2,6 ha instalados a partir de mudas produzidas via seminífera. O clima na região é do tipo BSh semiárido, segundo a classificação de Köppen, caracterizado com temperaturas superiores a 25°C e pluviosidade média inferior a 1000 mm ano⁻¹ com chuvas irregulares (AMBIENTE BRASIL, 2016).

O solo caracteriza-se como um vertissolo de textura argilosa, cujas plantas foram dispostas no espaçamento 4,0 m x 4,0 m, em forma de triângulo. Foram realizadas práticas de adubação e irrigação durante o experimento.

Os valores mensais de temperaturas do ar (°C), umidade e precipitação (mm) foram coletados a partir de uma estação meteorológica próxima ao experimento na cidade de São Gonçalo-PB, entre os meses de setembro a maio de 2014/2015 (Figura 1).

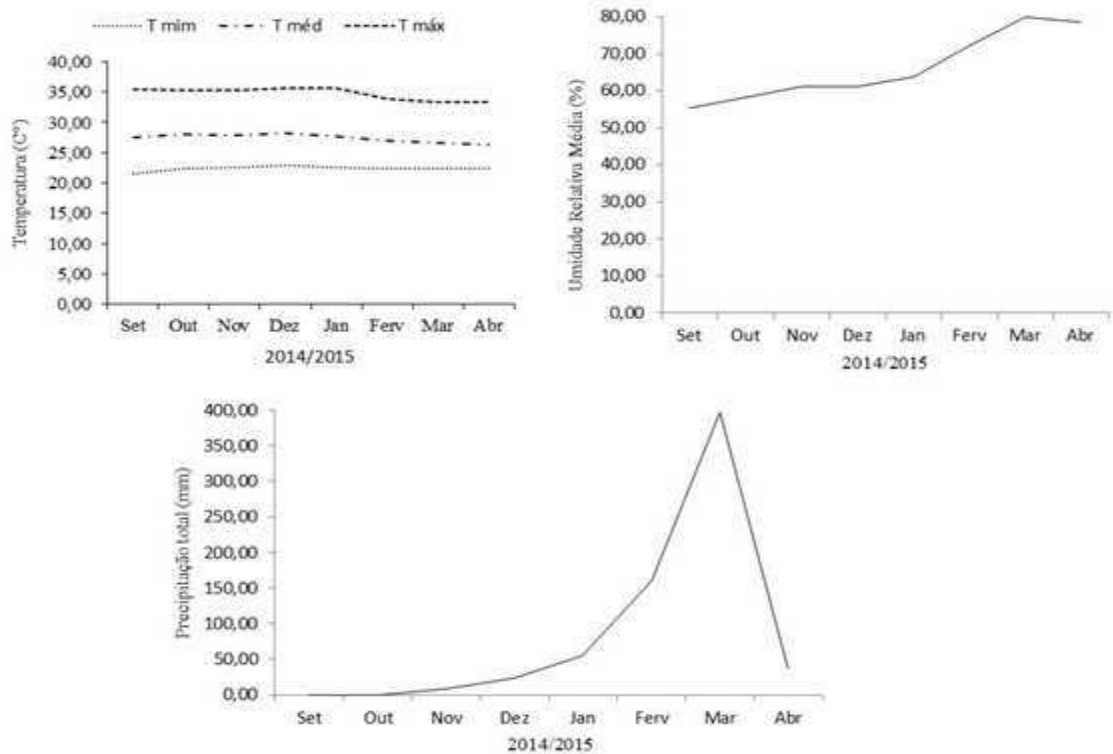


Figura 1: Temperatura, umidade relativa e precipitação do ar durante os meses de setembro a dezembro de 2014 e de janeiro a abril de 2015. Fonte: Estação Climatológica de São Gonçalo, São Gonçalo PB - INMET.

4.2 Delineamento experimental

O delineamento experimental utilizado foi o inteiramente ao acaso, cujos tratamentos foram constituídos pela idade dos frutos (60, 70, 80, 90 e 100 dias), sendo utilizada uma amostragem de 20 frutos por tratamento, que constituiu-se em 4 repetições, sendo cada repetição composta por 5 frutos.

4.3 Condução do experimento

Para a realização da pesquisa foram selecionadas plantas adultas, vigorosas e saudáveis, distribuídas uniformemente no pomar. A marcação das flores se deu a partir da antese e foi realizada no período da manhã, periodicamente em intervalos de dez dias, fazendo-se uso de fitas coloridas. No momento da marcação realizou-se desbaste de flores nos ramos que apresentava duas ou mais flores, permanecendo apenas uma flor por ramo.



Figura 2: Marcação das flores, Sousa-PB, 2014. Fonte: Autoria própria

Após os frutos atingirem as idades preestabelecidas realizou-se a colheita dos mesmos no período da manhã. Foram realizadas 5 coletas em distintas épocas num intervalo de dez dias. Assim foram colhidos e analisados frutos aos 60, 70, 80, 90 e 100 após a antese (Figura 3).

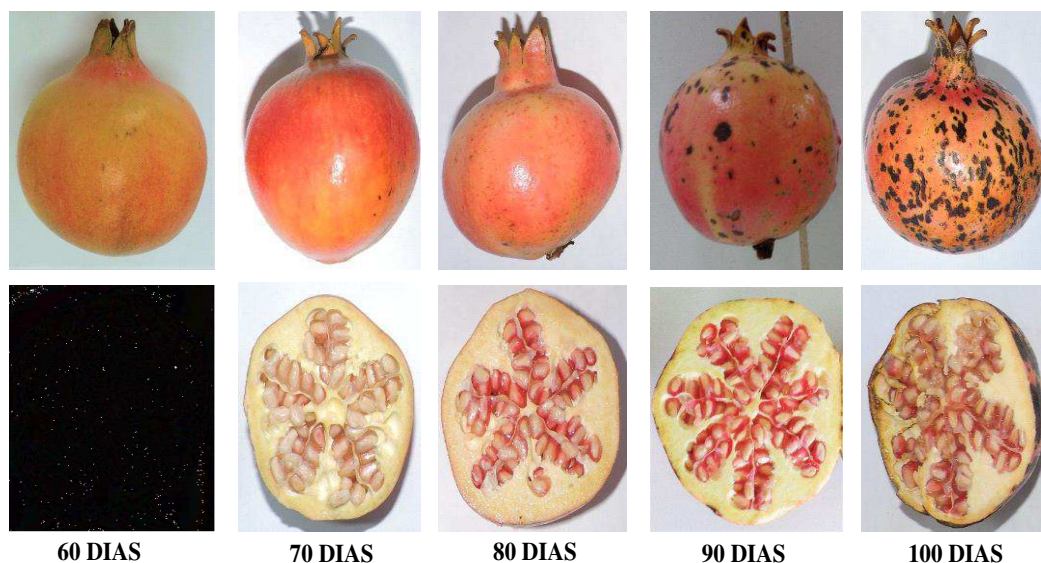


Figura 3: Frutos da romãzeira (cv. Molar) aos 60, 70, 80, 90 e 100 dias, produzidos na Fazenda Águas de Tamanduá, Várzeas de Sousa-PB, 2015. Fonte: Autoria própria.

Após a colheita, os frutos foram acondicionados em isopor devidamente revestidos com papel toalha e transportados para o Laboratório de Análises de Alimentos da Universidade Federal de Campina Grande (UFCG), *Campus* de Pombal-PB. Os frutos foram lavados com detergente neutro a 1% e, após enxágue,

sanitizados com solução de hipoclorito de sódio a 100ppm de cloro livre por quinze minutos e secos a temperatura ambiente (Figura 4.A). Os arilos foram separados da semente por prensagem manual em saco plástico de polietileno (Figura 4.B). Posteriormente, o volume de suco extraído dos arilos foi utilizado para as análises. Para as análises de antioxidantes, o suco foi mantido em recipiente fechado envolto com papel alumínio, sendo mantidos congelados em freezer até a realização das análises.



Figura 4: Lavagem dos frutos (A), extração do suco (B). Fonte: Autoria própria

4.4 Características avaliadas

4.4.1 Potencial Hidrogeniônico (pH)

Foi determinado diretamente utilizando pHmetro marca TecnoPON (Modelo mPA – 210P/Versão 7.1), através de inserção direta do eletrodo de membrana de vidro sobre o suco (Instituto Adolfo Lutz, 2008). As leituras foram realizadas em triplicata.

4.4.2 Sólidos Solúveis (SS)

Foi determinado diretamente no suco homogeneizado, por meio do índice de refração, utilizando refratômetro digital de bancada (modelo PR – 100, Palette, Atago Co., LTD., Japan) (AOAC, 2005). Os dados foram expressos em porcentagem (%).

4.4.3 Açúcares totais

A determinação de açúcares totais foi realizada pelo método antrona de Yemm, Willis (1954). O extrato foi obtido através da diluição de 0,2 mL do suco em 100 mL de água destilada, em seguida foi retirada uma alíquota de 0,2 mL do extrato adicionado 0,8 mL de água destilada e 2,0 mL de antrona, posteriormente as amostras foram agitadas e levadas para o banho-maria a 100°C por 5 minutos. A leitura foi realizada em espectrofotômetro a 620 nm, os valores foram expressos em mg por 100 mL do suco.

4.4.4 Vitamina C

Foi realizada, segundo AOAC (2005), através da titulação com 2,6 diclorofenolindofenol (DFI), até obtenção de coloração rósea claro permanente, utilizando-se 1,0 ml do suco diluído em 49,0 mL de ácido oxálico 0,5% e o resultado foi expresso em % de ácido ascórbico.

4.4.5 Antocianinas

As determinações seguiram a metodologia proposta por Francis (1982). Onde foi tomado 1,0 ml do suco de romã , o qual foi transferido para tubos de ensaio revestido com papel alumínio, adicionando-se 10,0 mL da solução extratora de etanol 95% com HCl 1,5 N na proporção de 85:15 (v/v), respectivamente. A amostra foi homogeneizada em agitador Vortex, posteriormente, foi deixado em repouso por uma noite na geladeira sob ausência de luz. A leitura foi realizada em espectrofotômetro a 535nm, calculando-se através da fórmula: fator de diluição x absorbância/ 98,2 , sendo os dados expressos em mL/100mL⁻¹ do suco.

4.4.6 Atividade Antioxidante pelo método DPPH

Na determinação da atividade antioxidante pelo método DPPH de acordo com Rufino et al., (2007a) , para a preparação dos extratos retirou-se 1 mL de suco de romã e diluiu-se em 49 mL de água destilada,este extrato foi deixado de repouso por uma hora. Para a determinação do DPPH foram retiradas as alíquotas de 10 µl, 30 µl e 50 µl do extrato para a realização das análises.

As alíquotas retiradas tiveram seu volume completado para 100 mL com água destilada, sendo adicionado em cada amostra 3,9 mL da solução de DPPH, posteriormente os tubos foram agitados para a homogeneização. As leituras foram realizadas em espectrofotômetro a 515 nm, sendo monitorada em um intervalo de tempo que variou de 15 a 20 minutos, sendo determinado previamente de acordo com os tratamentos. Para a realização da calibração do espectrofotômetro fez uso de álcool metílico. Todas as determinações foram realizadas em triplicata e acompanhadas de um controle (sem antioxidante).

Para o cálculo dos valores de EC50 (concentração do extrato necessário para reduzir 50 % do radical DPPH) das distintas amostras, calculou-se a atividade antioxidante nas diferentes concentrações, de forma a traçar uma curva linear entre a capacidade antioxidante da amostra e sua concentração. O resultado foi dado em g de suco/ g de DPPH.

4.4.7 Atividade Antioxidante pelo método do radical ABTS

Para a determinação da atividade antioxidante pelo método do radical ABTS, inicialmente, foi formado o radical ABTS, a partir da reação de 7 mM de ABTS com 140 mM de persulfato de potássio, os quais foram incubados à temperatura ambiente e na ausência de luz, por 16 horas. Transcorrido esse tempo, a solução foi diluída em etanol até a obtenção de uma solução com absorvância de 0,70 (\pm 0,05) nm a 734 nm (Rufino et al., 2007b).

Para a realização das análises, foram retiradas alíquotas de 10 μ l, 30 μ l e 50 μ l do extrato e seu volume foi completado para 100 mL com álcool etílico e em seguida acrescido 3 mL do radical ABTS e homogeneizada em agitador de tubos. Posteriormente, se esperou seis minutos e realizou-se leitura em espectrofotômetro no comprimento de onda 734 nm usando como o branco álcool etílico. Como solução-padrão, usou-se o antioxidante sintético Trolox nas concentrações de 100; 500; 1000; 1500 e 2.000 μ M em etanol. Todas as leituras foram realizadas em triplicata, e os resultados foram expressos em μ M de Trolox por mL de suco de fruta.

4.4.8 Análise Estatística

Os dados foram submetidos à análise de variância (ANOVA) e regressão, utilizando software SISVAR versão 5.3. (Ferreira, 2011). Análise de correlação Pearson foi realizada para determinar a correlação entre os compostos bioativos e a atividade antioxidante, utilizando o programa Programa Sigma Plot versão 11.0.

5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

Conforme a Análise de Variância verificou-se efeito significativo ao nível de 1% de probabilidade para todas as variáveis estudadas, exceto a atividade antioxidante do suco pelo método DPPH, durante o desenvolvimento do fruto de romãzeira cv. Molar que não diferiu significativamente durante as fases de crescimento do fruto (Tabela 1).

Tabela 1: Resumo da Análise de Variância para as variáveis pH, Sólidos Solúveis(%), Açúcares Totais (mg/100 mL do arilo), Vitamina C (% de ácido ascórbico), Antocianinas (mL/100ml⁻¹), e Atividade Antioxidante método DPPH (g suco/g DPPH) e ABTS (uM Trolox/g polpa) , em romã cv. Molar, durante o desenvolvimento do fruto.

FV	GL	Quadrado Médio						
		pH	Sólidos Solúveis	Açúcares Totais	Vitamina C	Antocianinas	DPPH	ABTS
Idade dos Frutos	4	0,038832**	4,48583**	15,1890**	18,981055**	4,96127**	3814323,03 ^{ns}	582076545,62**
Resíduo	15	0,004075	0,275425	1,4252	0,3955	0,6527	1701292,9	29357570,45
CV (%)		2,08	4,1	8,42	7,66	19,61	51,88	22,58
Média		3,06	12,81	14,1835	8,2	4,11	2514,32	23992.99

**Significativo, ^{ns} não significativo a 1% de probabilidade, pelo teste de F

Houve pequena variação no pH, com valores entre 2,93 e 3,15 durante o desenvolvimento do fruto (Tabela 2). Segundo Chitarra e Chitarra (2005) conforme a espécie, o pH pode ser influenciado pelas mudanças nas concentrações de ácidos orgânicos durante o desenvolvimento do fruto. Ocorrendo aumento desse parâmetro quando há o consumo de ácidos orgânicos, enquanto que o acúmulo dos mesmos ocasiona reduções no pH, sendo esta variação em decorrência da atividade respiratória das células. Valores de pH entre 3 e 4 foram relatados por Moreira et al., (2015), ao caracterizar a qualidade da romã cv. Molar, durante o armazenamento dos frutos *in natura* sob diferentes temperaturas de refrigeração.

Com o avanço do desenvolvimento do fruto, ocorreu aumento nos sólidos solúveis (SS), sendo registradas variações de 11,3% a 14,1% durante o desenvolvimento do fruto (Tabela 2), este aumento no SS pode ser atribuído à hidrólise de amido em açúcares como o avanço da maturação da romã (KULKAMI, ARADHYA 2005). Valores de SS semelhantes aos encontrados nessa pesquisa foram relatados por Silva et al., (2015), 12 e 15% em frutos de romãzeira 'Molar' armazenados, sob condições ambientes. Fawole et al., (2012) relataram conteúdos de sólidos solúveis (SS) em romãs cultivadas na África do Sul ('Arakata', 'Bhagwa' e 'Ruby') menores no estágio de maturação precoce, o qual aumentou de 14,07-15,10 %, com o avanço da maturação, concordando com os resultados obtidos no presente estudo.

Os valores de açúcares totais tiveram aumento dos 60 aos 90 dias, variando de 12,08 a 16,70 mg/100mL do suco, com um decréscimo aos 100 dias (Tabela 2), esse decréscimo está associado ao amadurecimento do fruto, quando os açúcares estão sendo utilizados como energia no processo respiratório. Fawola e Opara (2013a) relataram aumento rápido no açúcar total desde a fase inicial, fruto imaturo até o meio-maduro (54-110 DAPF). Segundo Zarei et al., (2011), a acumulação de açúcares simples é um dos processos que ocorrem durante as fases finais de desenvolvimento do fruto, resultando em aumento da doçura do fruto.

A concentração de vitamina C aumentou dos 60 aos 90 dias, variando de 4,75 a 10,50% de ácido ascórbico, porém com decréscimo aos 100 dias (Tabela 2), esta queda pode ser decorrente da redução no metabolismo como resultado do amadurecimento e senescência do fruto, ou da ação de enzimas oxidantes como a ácido ascórbico oxidase (Chitarra, Chitarra, 2005). Por meio da oxidação estas enzimas agem na degradação da vitamina C e evitam que outras substâncias

químicas se oxidem primeiramente. (Couto, Canniatti-Brazaca, 2010). Em estudo realizado por Tehranifar et al., (2010), foram reportados teores de vitamina C em romãs cultivadas no Irã, de 9,91-20,92 (% de ácido ascórbico).

Verificou-se um aumento notável no teor de antocianinas dos 60 aos 90 dias com valores entre 2,42 e 5,2 mL.100mL⁻¹ do suco, respectivamente, seguido de um decréscimo aos 100 dias de desenvolvimento do fruto, atingindo 4,02 mL.100mL⁻¹ de suco (Tabela 2). Tehranifar et al., (2010) e Arendse et al., (2015) relataram conteúdos de antocianinas de 5,56-30,11 mL.100mL⁻¹ e 226,27 mg.100mL⁻¹, em romãs cultivadas no Irã e da cv. "Wonderful" no momento da colheita, respectivamente, valores estes superiores aos encontrados neste estudo. Fawola e Opara (2013a), relataram aumento do pigmento antocianinas durante a maturação dos frutos para as cultivares 'Bhagwa', 'Mollar' e cultivares de romã "*Ganesh*", assim como aconteceu nesta pesquisa.

Em relação à capacidade antioxidante determinada pelo método DPPH, inicialmente os frutos apresentaram menor atividade antioxidante, com valores de 1407,17g suco/g DPPH aos 60 dias, posteriormente ocorreu aumento, atingindo valores de 3501,00 g suco/g DPPH aos 90 dias de desenvolvimento do fruto. Aos 100 dias ocorreu pequena redução na capacidade antioxidante dos frutos (Tabela 2). O aumento ocorrido dos 60 aos 90 dias de desenvolvimento pode ser justificado por uma acumulação significativa de antocianinas nos frutos, conforme os mesmos avançam para o estágio totalmente maduro, já a redução da capacidade antioxidante ocorrida aos 100 dias pode estar associada a uma diminuição na quantidade de polifenóis no suco.

Na capacidade antioxidante determinada pelo método ABTS, assim, como no método do DPPH verificou-se aumento na capacidade antioxidante dos frutos durante o desenvolvimento, com valores de 40188,13 uM Trolox/g polpa aos 60 dias e de 10546,52 uM Trolox/g polpa aos 90 dias, constando assim uma maior capacidade antioxidante nos frutos aos 90 dias após antese (Tabela 2).

Kulkarni e Aradhya (2005) também reportaram uma menor atividade antioxidante nos frutos nos estádios iniciais de desenvolvimento. Os mesmos autores justificam que essa baixa atividade, pode ser devido a uma reduzida concentração de compostos fenólicos e de ácido ascórbico no suco (KULKARNI e ARADHYA 2005). Bopitiya e Madhujith (2012) ao estudarem a capacidade antioxidante das cultivares de romã Nayana, Daya, Nimali, pelos métodos DPPH e

ABTS, obtiveram com o método DPPH valores de IC50 que variaram de 0,182 mg/mL a 0,446 mg/mL. Enquanto que para o ABTS os valores variaram entre 93,1% e 72,73%. Em ambos os métodos a cultivar Nayana apresentou a capacidade antioxidante mais elevada.

Tabela 2. Médias observadas das variáveis pH, Sólidos Solúveis (SS), Açúcares Totais, (AT), Vitamina C, Antocianinas e Capacidade Antioxidantes determinada pelos métodos DPPH e ABTS no arilo da romã cv. Molar em diferentes idades do fruto.

Médias Das Variáveis							
Idade	pH	Sólidos Solúveis	Açúcares Totais	Vitamina C	Antocianinas	DPPH	ABTS
60	3,13	12,62	12,08	4,75	2,42	1407,17	40188.13
70	3	11,3	12,34	7,86	3,9	1540,99	30434.95
80	3,15	12,54	15,02	9,46	5,04	2644,85	24653.82
90	2,93	13,56	16,7	10,5	5,2	3501	10546.52
100	3,14	14,05	14,75	8,46	4,02	3323,85	14141.54

Correlação de Pearson foi realizada para determinar as relações entre os compostos bioativos e a capacidade antioxidante dos frutos durante o desenvolvimento da romã. Segundo Dalton Filho e José Júnior (2009) a correlação de Pearson mensura a direção e o grau de relação linear entre duas variáveis quantitativas, com r variando de -1 a 1. Sendo: $r = 0,10$ até $0,30$ (fraco); $r = 0,40$ até $0,6$ (moderado); $r = 0,70$ até 1 (forte). Nesse sentido, quanto mais perto de 1 (independente do sinal) maior é o grau de dependência estatística linear entre as variáveis e quanto mais próximo de zero, menor é a força dessa relação.

Os resultados para a correlação de Pearson entre os compostos bioativos e a capacidade antioxidante da romã cv. Molar durante o desenvolvimento do fruto, determinada pelos métodos DPPH e ABTS estão apresentados na Tabela 3.

De acordo com a Tabela 3, verificou-se que a capacidade antioxidante determinada pelo método DPPH, apresentou correlação positiva com o pH aos 60, 80 e 90 dias de desenvolvimento do fruto, apresentando correlações forte aos 60 e 90 dias e moderada aos 80 dias, com $r = 0,909$; $r = 0,871$ e $r = 0,665$, respectivamente, porém apresentou correlação negativa aos 70 dias ($r = -0,829$), isto significa direção negativa entre as variáveis, ou seja, na medida em que uma

diminui a outra aumenta, como ocorreu redução no pH nessa época (70 dias) (Tabela 2), conseqüentemente a capacidade antioxidante do fruto aumentou (Tabela 3). Em relação ao teor de sólidos solúveis, verificou-se forte correlação com a capacidade antioxidante aos 70 ($r = 0,822$), aos 90 ($r = - 0,761$) e aos 100 ($r = 0,819$) dias de desenvolvimento do fruto, com moderada correlação nas demais idades, sendo negativa a correlação ($r = - 0,761$) aos 90 dias. Os açúcares totais apresentaram correlações fortes aos 60 ($r = 0,994$), 80 ($r = - 0,758$) e aos 90 dias ($r = - 0,880$), apresentando moderadas correlações nas demais idades analisadas. A concentração de vitamina C apresentou forte correlação aos 60 ($r = 0,854$) dias e moderada correlação aos 90 ($r = - 0,691$) e 100 ($r = 0,433$), respectivamente e fraca correlação nas demais idades analisadas. As antocianinas apresentaram forte correlação aos 60 ($r = - 0,793$), 90($r = - 0,778$) e aos 100 dias ($r = 0,873$), tendo fraca correlação aos 70 e 80 dias de desenvolvimento do fruto.

Para a capacidade antioxidante determinada pelo método ABTS verificou-se fracas e moderadas correlações para a maioria das idades analisadas. Para o pH, as mais fortes correlações foram registradas aos 60 e 80 dias ($r = - 0,755$; $r = - 0,773$), respectivamente. Para os Sólidos Solúveis (SS), aos 100 dias de desenvolvimento do fruto, com $r = - 0,948$, já para os Açúcares Totais foram registrados moderada correlação para os 60 dias e forte correlação nos 80 e 100 dias de desenvolvimento do fruto ($r = - 0,657$; $r = - 0,996$; $r = - 0,703$), respectivamente. Para a maioria das variáveis analisadas foram registradas correlações negativas, com a exceção da Vitamina C, que apresentou correlação positiva com a capacidade antioxidante aos 70 dias de desenvolvimento do fruto ($r = 0,921$), porém correlações de fraca a moderada nas demais idades analisadas. Para as Antocianinas os maiores coeficientes de correlação de Pearson (r) registrados aos 70 ($r = - 0,847$) e 100 ($r = - 0,996$) dias de desenvolvimento do fruto de romã.

Maphahlele et al.,(2014) ao estudar a capacidade antioxidante do suco de romã (cv. Wonderful) relataram a capacidade antioxidante medida pelo ensaio FRAP correlacionada positivamente com a vitamina C ($r = 0,75$), conforme também ocorreu nesse estudo, aos 60 dias pelo método do DPPH e aos 70 dias no método ABTS. Semelhante ao que ocorreu nessa pesquisa para a capacidade antioxidante determinada pelo método DPPH em frutos com 100 dias de idade, Kar et al., (2011) também registraram forte correlação positiva ($r = 0,80$) entre a capacidade antioxidante e conteúdo de antocianinas, sugerindo que as mesmas

são o principal contribuinte na capacidade antioxidante das romãs estudadas aos 100 dias de desenvolvimento do fruto. Como ocorreu nesse estudo com o método do DPPH, com exceção dos frutos aos 100 dias, Borochoy-Neori et al., (2009) também reportaram que as antocianinas ($r = 0,38$), não foram positivamente correlacionada com a capacidade antioxidante total exibida pelo suco de romã, conforme medida pelo ensaio FRAP, já Pena et al., (2013) reportaram antocianinas e vitamina C significativamente correlacionadas com a capacidade antioxidante, com coeficientes de correlação de Pearson (r) de 0,59 e 0,78, respectivamente. Assim como ocorreu nos frutos aos 60 dias ($r = - 0,793$), 90 dias ($r = - 0,778$) que apresentaram forte correlação negativa entre as antocianinas e a capacidade antioxidante determinada pelo método DPPH e aos 70 dias ($r = - 0,847$) e 100 dias ($r = - 0,996$) pelo método ABTS, Fawola e Opara (2013c) também relataram antocianinas negativamente correlacionada com a capacidade antioxidante em ensaio FRAP ($r = - 0,881$).

Tabela 3. Coeficiente de Correlação (r) entre o potencial antioxidante do suco da romã cv.Molar determinados pelos métodos DPPH e ABTS com as variáveis pH, Sólidos Solúveis, Açúcares Totais, Vitamina C e Antocianinas.

IDADE	pH	Sólidos Solúveis	Açúcares Totais	DPPH	
				Vitamina C	Antocianinas
60	0,909	0,447	0,994	0,854	-0,793
70	-0,829	0,822	-0,643	0,136	0,356
80	0,665	0,447	-0,758	-0,073	0,231
90	0,871	-0,761	-0,880	-0,691	-0,778
100	-0,0061	0,819	0,589	0,433	0,873
ABTS					
60	-0,755	0,291	-0,657	-0,488	0,0559
70	0,496	-0,512	-0,592	0,921	-0,847
80	-0,773	-0,465	-0,996	0,385	-0,181
90	-0,0268	-0,427	-0,22	-0,312	0,000203
100	0,04	-0,948	-0,703	-0,568	-0,996

6 CONCLUSÕES

Nas condições em que o presente trabalho foi desenvolvido concluiu-se que há mudanças nas características química da romã (cv. Molar) nos diferentes estádios de desenvolvimento do fruto. Aos 90 dias de idade o fruto tem os melhores atributos de qualidade na composição química do arilo, com os maiores valores de pH, Açúcares Totais, Vitamina C, Antocianinas e Capacidade Antioxidante.

A Capacidade Antioxidante dos frutos determinada pelo método DPPH apresentou fortes e moderadas correlações na maioria das variáveis analisadas, enquanto que para a Capacidade Antioxidante determinada pelo método ABTS essas correlações foram em sua maioria moderadas a fracas.

A maior correlação para a Capacidade Antioxidante determinada pelo método DPPH foi verificada aos 60 dias, com a variável Açúcares Totais, com coeficiente de Correlação de Pearson $r= 0,994$, já para a Capacidade Antioxidante determinada pelo método ABTS, a maior correlação foi aos 80 dias, também com a variável Açúcares Totais, porém com coeficiente de Correlação de Pearson negativo $r= -0,996$.

7 REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- AL-MAIMAN, S. A.; AHMAD, D. Changes in physical and chemical properties during pomegranate (*Punica granatum L.*) fruit maturation. **Elsevier Science. Food Chemistry**, v. 76, p. 437–441, 2002.
- AMBIENTE BRASIL. **Classificação dos Climas do Brasil**. Disponível em: <http://w.w.w.ambientebrasil.com.br/natural/clima/clima_classificacao_dos_climas_o_brasil.html>. Acesso em: 10 de jan. 2016.
- ARENDSE, E., FAWOLE, O.A. and OPARA, U.L. Influence of storage temperature and duration on postharvest physico-chemical and mechanical properties of pomegranate fruit and arils. **CYTA J. Food**, v.12, pag.389–398, 2015.
- ASSOCIATION OF OFFICIAL ANALYTICAL CHEMISTS – AOAC. **Official Methods of Analysis of the Association of Official Analytical Chemists**. 18 ed, Gaithersburg, Maryland, 2005.
- BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Lei Nº 10831, de 23 de dezembro de 2003. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. **Diário Oficial da União**, Brasília, Seção 1, p. 8, 24 dez. 2003.
- BOPITIYA, D.; MADHUJITH, T. Antioxidant Potential of Pomegranate (*Punica granatum L.*) Cultivars Grown in Sri Lanka. **Tropical Agricultural Research** . Sri Lanka, v. 24, n. 1, p.71 – 81, 2012.
- BOROCHOV-NEORI, H.; JUDEINSTEIN, S.; TRIPLER, E.; HARARI, M.; GREENBERG, A.; SHOMER, I.; HOLLAND, D. Seasonal and cultivar variations in antioxidant and sensory quality of pomegranate (*Punica granatum L.*) fruit. **Journal of Food Composition and Analysis**. San Diego, v. 22, n.3, pag.189–195. 2009.
- CEAGESP. <http://www.ceagesp.gov.br/comunicacao/arquivo/2010>. Acessado em 05 de dezembro de 2015.
- CHITARRA, M. I. F.; CHITARRA, A. B. **Pós-colheita de frutos e hortaliças: fisiologia e manuseio**. Lavras: Editora UFLA, 2005, 785p.
- CRISOSTO, C.H.; E. J. MITCHAM; A. A. KADER. Pomegranates. **Perishables Handling**. v. 85, p. 17-18, 1996.
- COUTO, M. A. L.; CANNIATTI-BRAZACA, S. G. Quantificação de vitamina C e capacidade antioxidante de variedades cítricas. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, Campinas, v. 30(Supl.1), pag.15-19, maio 2010.
- DALTON FILHO, B.F.; JOSÉ JÚNIOR, A.S. da. Desvendando os Mistérios do Coeficiente de Correlação de Pearson (r). **Revista Política Hoje**, Vol. 18, n. 1, 2009.

- DRAGOVIC-UZELAC, V.; LEVAJ, B.; MRKIC, V., BURSAC, D., BORAS, M. The content of polyphenols and carotenoids in three apricot cultivars depending on stage of maturity and geographical region. **Food Chem.** 102, 966–975, 2007.
- DEGÁSPARI, C. H.; DUTRA, A. P. C. Propriedades fitoterápicas da romã (*Punica granatum L.*). **Visão Acadêmica**, Curitiba, v.12, n.1, pag. 36-46, 2011.
- ELFALLEH, W.; YING, NASRI, N.; SHENG-HUA.; GUASMI, F.; FERCHICHI, A. Fatty acids from Tunisian and Chinese pomegranate (*Punica granatum L.*) seeds. **International Journal of Food Sciences and Nutrition**, Reino Unido, v.62, n. 3, p.200-206, 2011.
- FAWOLE, O.A., MAKUNGA, N.P; OPARA, U.L. Antibacteria l, antioxidant and tyrosine-inhibition activities of pomegranate fruit peel methanolic extract. **BMC Complement. Altern. Med.** 12, pag.200– 225, 2012.
- FAWOLE, O. A.; OPARA, U. L. Changes in physical properties, chemical and elemental composition and antioxidant capacity of pomegranate (cv."Ruby") fruit at five maturity stages. **Scientia Horticulturae**, South African, v. 150, p. 37–46, 2013.
- FAWOLE, O. A.; OPARA, U. L. Changes in physical properties, chemical and elemental composition and antioxidant capacity of pomegranate (cv. 'Ruby') fruit at five maturity stages. **Scientia Horticulturae**, Amsterdã, v. 150, n. 4, p. 37–46, 2013a.
- FAWOLE, O.A.; OPARA, U.L. Developmental changes in maturity indices of pomegranate fruit: A descriptive review. **Scientia Horticulturae**, Amsterdam, v. 159, n. 1, pag.152–161, 2013b.
- FAWOLE, O.A.; OPARA, U.L. Effects of maturity status on biochemical concentration, polyphenol composition and antioxidant capacity of pomegranate fruit arils (cv. 'Bhagwa'). **S. Afr. South African Journal of Botany**. Africa do Sul, v 85, n. 1 , 23–31. 2013c.
- FAWOLE, O.A.; OPARA, U.L. Fruit growth dynamics, respiration rate and physic textural properties during pomegranate development and ripening. **Scientia Horticulturae**, Amsterdam, v 157, n. 1, pag. 90–98, 2013f.
- FRANCIS, F.J. **Analysis of anthocyanins**.In: MARKAKIS,P.(Ed.).Anthocyanins as food colors New York: Academic Press.p.181-207, 1982.
- FERREIRA, D. F. Sisvar: um sistema computacional de análise estatística. **Ciência e agrotecnologia**, Lavras, v. 35, n. 6, p.1039-1042, 2011.
- FISCHER, U., DETTMANN, J. S., CARLE, R., & KAMMERER, D. R. Impact of processing and storage on the phenolic profiles and contents of pomegranate juices. **European Food Research and Technology**, v.233, 797–816, 2011.
- GIL, M.I.; TOMAS-BARBERAN, F.A., HESS-PIERCE, B.; HOLCROFT, D.M., KADER, A.A. Antioxidant activity of pomegranate juice and its relationship with phenolic composition and processing. **J. Sci. Food Agric.** 48, 4581–4589, 2000.

GOMES, L.N. **Mudanças na biometria da Roma (Cv. Molar) durante o desenvolvimento do fruto. 2015.32f .Trabalho de Conclusão de Curso** (Bacharelado em Agronomia), Centro de Ciências e Tecnologia Agroalimentar-CCTA, Universidade Federal de Campina Grande, Pombal , PB. 2015.

GUNJAN, J.; RAHUL N.; DIVYA S.; PRAVEEN K. S.; DIWAKER A K. **Antioxidant activity of various parts of punica granatum: The review** Journal of Drug Delivery & Therapeutics; v. 2(6), pag.138-141, 2012.

HALLIWELL, B. Antioxidants in human health and disease. **Annual Review of Nutrition** v.16, pag.33–50, 1996.

HERNANDEZ, F., MELGAREJO, P., TOMAS-BARBERRAN, F.A., ARTES, F. Evolution of juice anthocyanins during ripening of new selected pomegranate (*Punica granatum*) clones. **Eur. Food Res. Technol**, v.210, pag.39–42, 1999.

HOLLAND, D.; HATIB, K.; BAR- YA "AKOV, I. Pomegranate: Botany, **Horticulture, Breeding. Hortic. Ver**, v.35, pag.127 – 191, 2009.

IAL – INSTITUTO ADOLFO LUTZ. **Métodos físico-químicos para análise de alimentos**. 4 ed. São Paulo: Instituto Adolfo Lutz, 2008.

INMET-INSTITUTO NACIONAL DE METEOROLOGIA - Banco de Dados Meteorológicos para Ensino e Pesquisa .Disponível em http://www.inmet.gov.br/projetos/rede/pesquisa/gera_serie_txt_mensal.php?&mRelEstação =82689. Acesso em 12 de Jan 2015.

JADON, G.; NAINWANI, R.; SINGH, D.; SONI, P, K.; DIWAKER, A. K. Antioxidant activity of various parts of Punica granatum: **The review. Journal of drug & therapeutics, India**, v. 6, n.2, p. 138-141, 2012.

JARDINI, F. A.; MANCINI FILHO, J. Avaliação da atividade antioxidante em diferentes extratos da polpa e sementes da romã (*Punica granatum*, L.). **Revista Brasileira de Ciências Farmacêuticas**. São Paulo, vol. 43, n. 1, pag. 137-147, 2007.

JOHANNINGSMEIER, S.D., HARRIS, G.K. Pomegranate as a functional food and nutraceutical source. **Ann. Rev. Food Sci. Technol**, v.2, pag.181–201, 2011.

KADER, F., IRMOULI, M., NICOLAS, P., & METCHE, M. Involvement of blueberry peroxidase in the mechanisms of anthocyanin degradation in blueberry juice. **Journal of Food Science**, v. 67, pag.910- 915, 2002.

KAR, C. E.; FERCHICHI, A.; ATTIA, F.; BOUAJILA, J. Pomegranate (*Punica granatum*) Juices: Chemical Composition, Micronutrient Cations, and Antioxidant Capacity. **Journal of Food Science**, Washington,v.76, n.6, pag. 795-800, 2011.

KRIENGSACK, T., UNAROJ, B., KEVIN, C., LUIS, C. AND DAVID, H.B. Comparison of ABTS, DPPH, FRAP, and ORAC assays for estimating antioxidant activity from guava fruit extracts. **Journal of Food Composition and Analysis**, v.19, pag.669 – 675, 2006.

KULKARNI, A. P., ARADHYA, S. M. Chemical changes and antioxidant activity in pomegranate arils during fruit development. **Food Chemistry**, v. 93, pag. 319-324, 2005.

LI, X.; WASILA, H.; LIU, L.; YUAN, T.; GAO, Z.; ZHAO, B.; AHMAD, I. Physicochemical characteristics, polyphenol compositions and antioxidant potential of pomegranate juices from 10 Chinese cultivars and the environmental factors analysis. **Food chemistry**, Oxford, v.175, n.1, pag. 575-584, 2015.

LÓPEZ-RUBIRA, V., CONESA, A., ALLENDE, A., ARTÉS, F. Shelf life and overall quality of minimally processed pomegranate arils modified atmosphere packaged and treated with UV-C. **Postharvest Biol. Technol.**, v.37, pag.174–185,2005.

LORENZI, H.; BACHER, L.; LACERDA, M.; SARTORI, S. **Frutas brasileiras e exóticas cultivadas**. São Paulo: Instituto Plantarum de Estudos da Flora, 2006.

MAPHAHLELE, R.R.; STANDERC, M.A.; FAWOLE, O.A.; OPARA, U.L. 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, pag.36-45, 2014.

MARM. **Ministerio de Medio Ambiente y Medio Rural y Marino**. Anuário de Estatística 2010.

MARTINEZ, J.J.; MELGAREJO, P.; HERNANDEZ, F.; SALAZAR, D.M.; MARTINEZ, R. Seed characterization of five new pomegranate (*Punica granatum* L.) varieties. **Scientia Horticulturae**, v.110, PAG. 241–246, 2006.

MOREIRA, I, dos S. **Qualidade da romã ‘Molar’ submetida a temperaturas de armazenamento e biofilmes comestíveis**. 2014. 89f. Dissertação (Mestrado em Sistemas Agroindustriais). UFCG, Pombal, PB. 2014.

MOREIRA, I.S.; ROCHA, R. H. C.; PAIVA, E. P.; SILVA, H. S.; SOUSA, F. A. Biometria e componentes físico-químicos de romã armazenada sob refrigeração. **Pesquisa Agropecuária Tropical**, Goiânia, v. 45, n. 2, p. 209-215, 2015.

MORENO, P. M. Conferencia general: el granado, suproblemática y usos. I Jornadas Nacionales sobre el granado, 2012.

MIRDEHGHAN, S.H.; RAHEMI, M. Seasonal changes of mineral nutrients and phenolics in pomegranate (*Punica granatum* L.) fruit. **Sci. Hortic**, v.111, pag.120–127, 2007.

OLIVEIRA, L. P.; PINHEIRO, R. C.; VIEIRA, M. S.; PAULA, J. R.; BARA, M. T. F.; VALADARES, M. C. Atividade citotóxica e antiangiogênica de *Punica granatum* L., Punicaceae. **Brazilian Journal of Pharmacognosy**. Curitiba, v. 20, n. 2, pag. 201-207, 2010.

OPARA, L., AL-ANI, M., AL-SHUAIBI, Y. Physico-chemical properties, vitamin C content, and antimicrobial properties of pomegranate fruit (*Punica granatum* L.). **Food Bioprocess Technol**, v.2, pag.315–321, 2009.

OZGEN, M.; DURGAÇ, C.; SERÇE, S.; KAYA, C. Chemical and antioxidant properties of pomegranate cultivars grown in the Mediterranean region of Turkey. **Food Chemistry**, v.111, pag.703-706, 2008.

PATRAS, A.; BRUNTON, N.P.; O'DONNELL, C.; TIWARI, B.K. Effect of thermal processing on anthocyanin stability in foods; mechanisms and kinetics of degradation. **Trends in Food Science and Technology**, v.21, pag. 3–11, 2010.

PEDRIALI, A.; FERNANDES, A.U.; SANTOS, P.; SILVA, M.M.; SEVERINO, D.; DILVA, M.B. "Antioxidant activity, cito-and phototoxicity of Pomegranate (*Punica granatum L.*) seed pulp extract", **Cienc. Tecnol. Aliment**, v.30 (4), pag.10-21, 2010.

PENA, M.E.; ARTÉS-HERNÁNDEZ, F.; AGUAYO, E.; MARTÍNEZ-HERNÁNDEZ, G.B.; GALINDO, A.; ARTÉS, F.; GÓMEZ, P. Effect of sustained deficit irrigation on physicochemical properties, bioactive compounds and postharvest life of pomegranate fruit (cv. 'Mollar de Elche'). **Postharvest Biology and Technology**, V. 86, pag.171–180, 2013.

POYRAZOGLU, E., GOKMEN, V., ARTIK, N. Organic acids and phenolic compounds in pomegranate (*Punica granatum L.*) grown in Turkey. **J. Food Compos. Anal.** 15, pag.567–575, 2002.

RENAUD, S.C., GUEGUEN, R., SCHENKER, J., D'HOUTAUD, A. Alcohol and mortality in middle-aged men from eastern France. **Epidemiology**, v.9, pag.184–188, 1998.

RUFINO, M. S.; ALVES, R. E.; BRITO, E. S.; MORAIS, S. M.; SAMPAIO, C. G.; JIMÉNEZ, J. P.; CALIXTO, F. D. S. **Metodologia científica: determinação da atividade antioxidante total em frutos pela captura do radical livre DPPH.** Fortaleza, Embrapa Agroindústria Tropical, 2007a. 4p. Comunicado Técnico, N. 127.

RUFINO, M. S.; ALVES, R. E.; BRITO, E. S.; MORAIS, S. M.; SAMPAIO, C. G.; JIMÉNEZ, J. P.; CALIXTO, F. D. S. **Metodologia científica: determinação da atividade antioxidante total em frutos pela captura do radical livre ABTS.** Fortaleza, Embrapa Agroindústria Tropical, 2007b. 4p. Comunicado Técnico, N. 128.

SAYYARI, M.; VALERO, D.; BABALAR, M.; KALANTARI, S.; ZAPATA, P.J.; Prestorage Oxalic acid treatment maintained visual quality, bioactive compounds, and antioxidant potential of pomegranate after long-term storage at 2 °C. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 58, p. 6804-6808, 2010.

SERRANO, M. La Granada: maduración y post-recolección. I Jornadas Nacionales sobre el granado. 2012.

SHWARTZ, E.; GLAZER, I.; BAR-YA'AKOV, I.; MATITYAHU, I.; BAR-ILAN, I.; HOLLAND, D.; AMIR, R. Changes in chemical constituents during the maturation and ripening of two commercially important pomegranate accessions. **Food Chemistry**. Oxford, v. 115, n. 3, pag. 965–973, 2009.

SILVA; M. L. C.; COSTA; R. S.; SANTANA; A. S.; KOBLITZ, M. G. B. Compostos fenólicos, carotenóides e atividade antioxidante em produtos vegetais. **Semina: Ciências Agrárias**, Londrina, v. 31, n. 3, pag. 669-682, 2010.

SILVA, I.M.B.R. **Biometria e qualidade da romã orgânica durante o armazenamento.**2013.36f. Dissertação (Mestrado em Sistemas Agroindustriais), Centro de Ciências e Tecnologia Agroalimentar , Universidade Federal de Campina Grande, Pombal PB. 2013.

SILVA, I. M. B. R.; ROCHA, R. H. C.; SILVA, H. S.; MOREIRA, I. S.; SOUSA, F. A.; PAIVA, E. P. Quality and post-harvest life organic pomegranate 'Molar' produced in Paraíba semiarid. **Semina: Ciências Agrárias**, Londrina, v. 36, n. 4, p. 2555-2564. 2015.

TEHRANIFAR, A.; ZAREI, M.; NEMATI, Z.; ESFANDIYARI, B.; VAZIFESHENAS, M. R. Investigation of physico-chemical properties and antioxidant activity of twenty Iranian pomegranate (*Punica granatum* L.) cultivars. **Scientia Horticulturae**, Amsterdã , v. 126, n.2, pag. 180-185, 2010.

TEMPLE, N.J. Antioxidants and disease: more questions than answers. **Nutrition Research**, v.20, pag.449–459, 2000.

USEP. **El granado**. Faculdade de Ciências Agronômicas do Chile. disponível em: <http://pt.scribd.com/doc/81279365/El-Granado-u-de-Chile>, acesso em 20/01/2014.

WINK M. Biochemistry of plant secondary metabolism. 2nd ed. United Kingdom: Black-well Pub.2010.

YEMN, E.W., WILLS, A. J. The estimation of carbohydrate in plant extracts by anthrone. **The Biochemical Journal**, Londres, v. 57, n. 3, pag. 508-514, 1954.

VIUDA-MARTOS, M.; FERNÁNDEZ-LÓPEZ, J. and PÉREZ-ÁLVAREZ, J .A. Pomegranate and its many functional components as related to human health: **A Review. Compr. Rev. Food Sci. F**, v. 9, pag.635–665, 2010.

ZAREI, M.; AZIZI, M.; BASHIR-SADR, Z. Evaluation of physicochemical characteristics of pomegranate (*Punica granatum* L.) fruit during ripening. **Fruits** v.66, pag.121–129, 2011.