

Inês Margarida Alves de Jesus

**Avaliação qualitativa e do perfil de açúcares dos
frutos de diferentes variedades regionais de pereiras
e macieiras**

Orientador: Investigadora Auxiliar INIAV, I.P., Dra. Claudia Sánchez

Coorientador: Professor ESAC, Dr. Rui Costa

Coimbra, 2023

MESTRADO EM ENGENHARIA ALIMENTAR

Inês Margarida Alves de Jesus

Avaliação qualitativa e do perfil de açúcares dos frutos de diferentes variedades regionais de pereiras e macieiras

Relatório de estágio apresentado à Escola Superior Agrária de
Coimbra para cumprimento dos requisitos necessários à
obtenção do grau de mestre em **Engenharia Alimentar**

Orientador: Investigadora Auxiliar INIAV, I.P., Dra. Claudia Sánchez

Coorientador: Professor ESAC, Dr. Rui Costa

Coimbra, 2023

Agradecimentos

Primeiramente, gostaria de deixar um especial agradecimento à Dra. Claudia Sánchez por ter acreditado em mim desde o início, por me ter escutado todas as horas e por me ter acompanhado em todo o meu percurso.

Ao projeto cLabel+: Innovative Natural, Nutritious and Consumer Oriented “Clean Label” Foods (Ref. POCI-01-0247-FEDER-046080), pela disponibilização da bolsa de investigação.

Ao Instituto Nacional de Investigação Agrária e Veterinária, I.P. (INIAV), por me ter permitido realizar este trabalho nas suas instalações.

Ao Professor Rui Costa, pelos seus ensinamentos e conhecimentos transmitidos.

À Engenheira Patrícia Vicente e ao Engenheiro Rui de Sousa pela disponibilização das fotos da coleção das variedades regionais de pera e maçã.

À UNICAM – Sistemas Analíticos, Lda, em nome do Engenheiro Rui Costa pelo empréstimo do detetor de índice de refração, indispensável à elaboração do trabalho.

A toda a equipa do INIAV de Alcobaça, que me receberam da melhor forma possível, por todos os ensinamentos e lições, que levarei para a vida.

Aos meus colegas do INIAV, Ana Margarida Rodrigues, Marta Gonçalves, Daniel Félix e Francisco Martinho, que disponibilizaram do seu tempo para partilharem o seu conhecimento comigo.

Aos meus colegas Rita Teixeira e Edgar Ribeiro, que me acompanharam ao longo do Mestrado em Engenharia Alimentar, obrigada pelo companheirismo e pela ajuda.

Aos meus amigos de Torres Novas, que sempre me acompanharam durante todo o meu percurso.

Aos meus amigos de Lisboa, que independentemente de cada um ter seguido com a sua vida, em sítios diferentes, contamos uns com os outros.

Aos meus pais, António e Idalina, que foram um elemento fundamental durante estes dois anos. Obrigada por acreditarem sempre em mim e nas minhas capacidades. Obrigada por todo o apoio incondicional e por serem o meu porto de abrigo.

Ao Leonardo, por toda a paciência, pela motivação e tranquilidade transmitida durante a elaboração deste trabalho. Obrigada por acreditar em mim.

Resumo

Portugal é o terceiro país que mais consome fruta na União Europeia, sendo que, a maçã é o fruto mais consumido e a pera o terceiro. Em geral, este consumo tem vindo a aumentar nos últimos anos.

As variedades regionais de pereira e macieira fazem parte do nosso património genético vegetal e o estudo das mesmas é essencial se queremos evitar a sua extinção. Assim, o conhecimento das suas características é elementar para que possam ser valorizadas e introduzidas no mercado. Neste trabalho, foram estudadas cinco cultivares de maçã, ‘Pêro de Borbela’, ‘Pardo Lindo’, ‘Repinau’, ‘Pêro Coimbra’ e ‘Noiva’ e seis cultivares de pera, ‘Bela Feia’, ‘Torres Novas’, ‘Carapinheira’, ‘Carapinheira Roxa’, ‘Lambe-os-Dedos’ e ‘Amorim’. Estas variedades pertencem à região de Alcobaça e encontram-se na Estação Nacional de Fruticultura Vieira Natividade (ENFVN), do Instituto Nacional de Investigação Agrária e Veterinária, I.P.

O objetivo consistiu em caracterizar os frutos, especialmente quanto ao seu perfil de açúcares. Para além da quantificação dos quatro principais açúcares presentes na fruta usando a técnica de cromatografia líquida de alta eficiência (HPLC), avaliaram-se parâmetros de qualidade, tais como a firmeza, cor, peso, altura, diâmetro, pH, acidez titulável, matéria seca e teor de sólidos solúveis totais, das diferentes variedades regionais.

Os açúcares presentes na maçã e na pera, responsáveis pela doçura das mesmas, são a sacarose, a glucose, a frutose e o sorbitol, todos com diferentes capacidades edulcorantes. O conhecimento das concentrações destes açúcares na fruta poderá ter aplicabilidade na indústria alimentar, com a criação de edulcorantes mais naturais, tornando o seu estudo muito pertinente.

Palavras-chave: pera; maçã; variedades regionais; açúcares; cromatografia líquida de alta eficiência.

Abstract

Portugal is the third most fruit-consuming country in the European Union, with apples being the most consumed fruit and pears the third. In general, this consumption has been increasing in recent years.

The regional varieties of pear and apple trees are part of our plant genetic heritage and their study is essential if we want to avoid their extinction. Thus, the knowledge of their characteristics is elementary so that they can be valued and introduced into the market. In this work, five apple cultivars were studied, 'Pêro de Borbela', 'Pardo Lindo', 'Repinau', 'Pêro Coimbra' and 'Noiva', and six pear cultivars, 'Bela Feia', 'Torres Novas', 'Carapinheira', 'Carapinheira Roxa', 'Lambe-os-Dedos' and 'Amorim'. These varieties belong to the region of Alcobaça and are found at the Vieira Natividade National Fruit Growing Station (ENFVN), of the Instituto Nacional de Investigação Agrária e Veterinária, I.P.

The objective was to characterize the fruits, specifically their sugar profile. In addition to the quantification of the four main sugars present in the fruit, using the high-performance liquid chromatography (HPLC) technique, quality parameters such as firmness, color, weight, height, diameter, pH, titratable acidity, dry matter and total soluble solids content of the different regional varieties were evaluated.

The sugars present in apples and pears, responsible for their sweetness, are sucrose, glucose, fructose and sorbitol, all with different sweetening capacities. The knowledge of the concentrations of these sugars in the fruit may have applicability in the food industry, with the creation of more natural sweeteners, making their study very relevant.

Keywords: pear; apple; regional varieties; sugars; high performance liquid chromatography.

Índice

1.	Introdução	1
1.1.	Fruticultura e alimentação saudável.....	1
1.2.	Importância da maçã em Portugal.....	5
1.3.	Importância da pera em Portugal	6
1.4.	Variedades regionais de peras e maçãs	7
1.5.	Composição nutricional	9
1.5.1.	Açúcares	11
1.6.	Parâmetros de qualidade	13
1.6.1.	Colorimetria e Biometria.....	14
1.6.2.	Firmeza.....	14
1.6.3.	Teor de sólidos solúveis totais.....	14
1.6.4.	pH e acidez titulável	15
1.6.5.	Índice de qualidade.....	15
1.6.6.	Percentagem de matéria seca.....	16
1.7.	Cromatografia líquida de alta eficiência	17
1.7.1.	Fundamento Teórico.....	17
2.	Materiais e métodos	21
2.1.	Amostras	21
2.2.	Reagentes	22
2.3.	Preparação de soluções padrão.....	22
2.4.	Equipamentos.....	23
2.5.	Procedimento experimental.....	25
2.5.1.	Determinação de Parâmetros físico-químicos.....	25
2.5.2.	Determinação de açúcares pela técnica de HPLC	29
2.5.3.	Tratamento de dados	29
3.	Resultados e discussão	30

3.1.	Análise dos parâmetros de qualidade	30
3.1.1.	Peso, Altura, Diâmetro e A/D (altura por diâmetro)	30
3.1.2.	Cor	31
3.1.3.	Firmeza	34
3.1.4.	Acidez total.....	35
3.1.5.	Teor de sólidos solúveis	37
3.1.6.	Índice de qualidade.....	38
3.1.7.	Teor de matéria seca.....	40
3.2.	Análise de açúcares por HPLC	42
4.	Conclusões	57
5.	Referências Bibliográficas	59

Índice de Tabelas

Tabela 1 - Consumo humano de frutos per capita (kg/ hab.) por espécie frutícola, por ano.....	3
Tabela 2 - Composição nutricional da maçã sem casca.....	9
Tabela 3 - Composição nutricional da pera	10
Tabela 4 - Propriedades dos açúcares e polióis presentes na pera e maçã.....	11
Tabela 5 – Códigos de identificação das amostras congeladas, segundo a variedade, o ano e o sumo.	21
Tabela 6 - Peso, altura, diâmetro e relação A/D das variedades regionais de pera.....	30
Tabela 7 - Peso, altura, diâmetro e relação A/D das variedades regionais de maçã	31
Tabela 8 – Valores médios dos parâmetros colorimétricos L*, a*, b* e C*, das variedades regionais de pera	32
Tabela 9 - Valores médios dos parâmetros colorimétricos L*, a*, b* e C*, das variedades regionais de maçã.....	33
Tabela 10 - Concentração dos açúcares solúveis nas diferentes variedades regionais de maçã, em mg/g de peso seco. Os dados são referentes às amostras de 2021, foram obtidos com um detetor PDA e volume de injeção 10 µl.....	45
Tabela 11 - Concentração dos açúcares solúveis nas diferentes variedades regionais de pera, em mg/g de peso seco. Os dados são referentes às amostras de 2021, foram obtidos com um detetor PDA e volume de injeção 10 µl.....	45
Tabela 12 - Concentração dos açúcares solúveis nas diferentes variedades regionais de maçã, em mg/g de peso seco. Os dados são referentes às amostras de 2022, foram obtidos com um detetor PDA e volume de injeção 10 µl.....	46
Tabela 13 - Concentração dos açúcares solúveis nas diferentes variedades regionais de pera, em mg/g de peso seco. Os dados são referentes às amostras de 2022, foram obtidos com um detetor PDA e volume de injeção 10 µl.....	46
Tabela 14 - Concentração dos açúcares solúveis nas diferentes variedades regionais, em mg/g de peso seco. Os dados são referentes às amostras de 2021, foram obtidos com um detetor PDA e volume de injeção 40 µl.....	51
Tabela 15 - Concentração dos açúcares solúveis nas diferentes variedades regionais, em mg/g de peso seco. Os dados são referentes às amostras de 2021, foram obtidos com um detetor PDA e volume de injeção 40 µl.....	51

Tabela 16 - Concentração dos açúcares solúveis nas diferentes variedades regionais, em mg/g de peso seco. Os dados são referentes às amostras de 2022, foram obtidos com um detetor PDA e volume de injeção 40 µl.....	52
Tabela 17 - Concentração dos açúcares solúveis nas diferentes variedades regionais, em mg/g de peso seco. Os dados são referentes às amostras de 2022, foram obtidos com um detetor PDA e volume de injeção 40 µl.....	52
Tabela 18 - Concentração dos açúcares solúveis nas diferentes variedades regionais, em mg/g de peso seco. Os dados são referentes às amostras de 2021, foram obtidos com um detetor IR e volume de injeção 40 µl.....	53
Tabela 19 - Concentração dos açúcares solúveis nas diferentes variedades regionais, em mg/g de peso seco. Os dados são referentes às amostras de 2021, foram obtidos com um detetor IR e volume de injeção 40 µl.....	53
Tabela 20 - Concentração dos açúcares solúveis nas diferentes variedades regionais, em mg/g de peso seco. Os dados são referentes às amostras de 2022, foram obtidos com um detetor IR e volume de injeção 40 µl.....	54
Tabela 21 - Concentração dos açúcares solúveis nas diferentes variedades regionais, em mg/g de peso seco. Os dados são referentes às amostras de 2022, foram obtidos com um detetor IR e volume de injeção 40 µl.....	54

Índice de Figuras

Figura 1 - Evolução da produção de peras e maçãs em Portugal	2
Figura 2 - Percentagem de pessoas que comem pelo menos uma peça de fruta por dia .	2
Figura 3 - Variedades regionais de maçã da Estação Nacional de Fruticultura Vieira Natividade (ENFVN), seleccionadas para o presente estudo	8
Figura 4 - Variedades regionais de pera da Estação Nacional de Fruticultura Vieira Natividade (ENFVN), seleccionadas para o presente estudo.	8
Figura 5 – Sistema de Cromatografia líquida de alta eficiência	18
Figura 6 - Diagrama do sistema ótico detetor de arranjo de fotodíodos (PDA)	19
Figura 7 - Refração do feixe de luz na célula bicompartimentada do detetor IR	20
Figura 8 - Sistema de Cromatografia Líquida de Alta Eficiência usado	24
Figura 9 - Determinação do diâmetro	25
Figura 10 - A: Imagem tridimensional de cores CIELAB, em que L* representa a luminosidade. B: Imagem bidimensional de cores CIELAB, em que H representa o ângulo da tonalidade e C representa a saturação	26
Figura 11 - Determinação da cor.	26
Figura 12 - Determinação da firmeza	27
Figura 13 - Determinação do teor de sólidos solúveis.....	27
Figura 14 - Determinação da acidez	28
Figura 15 – Tonalidade (°Hue médio) das variedades regionais de pera.....	32
Figura 16 – Tonalidade (°Hue médio) das variedades regionais de maçã	33
Figura 17 - Firmeza média das variedades regionais das peras	34
Figura 18 - Firmeza média das variedades regionais de maçã	35
Figura 19 - Acidez total média das variedades regionais das peras	36
Figura 20 - Acidez total média das variedades regionais de maçã	36
Figura 21 – Teor médio de sólidos solúveis das variedades regionais das peras	37
Figura 22 – Teor médio de sólidos solúveis das variedades regionais de maçã.....	38
Figura 23 – Índice de qualidade médio das variedades regionais de pera.....	39
Figura 24 - Índice de qualidade médio das variedades regionais de maçã	40
Figura 25 – Matéria seca média das variedades regionais de pera	41
Figura 26 – Matéria seca média das variedades regionais de maçã	41

Figura 27 - Cromatograma exemplificativo dos padrões de sacarose, glucose, frutose e sorbitol, usando um detetor de arranjo de fotodíodos, com volume de injeção de 10 µl, temperatura do forno a 60°C e fluxo 0,6 ml/min	42
Figura 28 - Cromatograma típico das amostras de pera e maçã, recorrendo ao detetor PDA, temperatura do forno a 60°C e fluxo 0,6 ml/min	44
Figura 29 - Cromatograma exemplificativo dos padrões de sacarose, glucose, frutose e sorbitol, usando um detetor IR (A) e um detetor PDA (B), com volume de injeção 40 µl, temperatura do forno a 60°C e fluxo 0,6 ml/min.	48
Figura 30 - Cromatograma típico das amostras de pera e maçã, recorrendo ao detetor IR, temperatura do forno a 60°C e fluxo 0,6 ml/min.	49
Figura 31 - Cromatograma típico das amostras de pera e maçã, recorrendo ao detetor PDA, temperatura do forno a 60°C e fluxo 0,6 ml/min.	49
Figura 32 - Gráfico de barras com as diferentes concentrações de açúcares consoante a variedade regional em estudo. Este gráfico refere-se ao ano de 2021, volume de injeção de 10 µl, usando um detetor PDA.....	55
Figura 33 - Gráfico de barras com as diferentes concentrações de açúcares consoante a variedade regional em estudo. Este gráfico refere-se ao ano de 2022, volume de injeção de 40 µl, usando um detetor IR.....	55

Índice de Abreviaturas

INIAV: Instituto Nacional de Investigação Agrária e Veterinária, I.P.

ENFVN: Estação Nacional de Fruticultura Vieira Natividade

PNPAS: Programa Nacional de Promoção da Alimentação Saudável

HPLC: Cromatografia líquida de alta eficiência, do inglês *High performance liquid chromatography*

IFIC: *International Food Information Council*

INE: Instituto Nacional de Estatística

IGP: Indicação Geográfica Protegida

DOP: Denominação de Origem Protegida

IG: Índice glicémico

IQ: Índice de qualidade

HILIC: Cromatografia líquida de interação hidrofílica

SST: Sólidos Solúveis Totais

PDA: Detetor de arranjo de fotodíodos

IR: Detetor de índice de refração

PC: ‘Pêro Coimbra’

R: ‘Repinau’

PL: ‘Pardo Lindo’

PB: ‘Pêro de Borbela’

N: ‘Noiva’

C: ‘Carapinheira’

BF: ‘Bela Feia’

TN: ‘Torres Novas’

A: ‘Amorim’

L: ‘Lambe-os-dedos’

CR: ‘Carapinheira Roxa’

Financiamento

Este trabalho foi desenvolvido no âmbito do projeto “cLabel+: Innovative Natural, Nutritious and Consumer Oriented “Clean Label” Foods (Ref. POCI-01-0247-FEDER-046080)”. Financiado pelo Programa Operacional Competitividade e Internacionalização (POCI), no âmbito do COMPETE2020, Acordo de Parceria PORTUGAL 2020, co-financiado pelo Fundo Europeu de Desenvolvimento Regional (FEDER).

O trabalho foi desenvolvido no Instituto Nacional de Investigação Agrária e Veterinária, I.P. (INIAV) – Polo Alcobaça, Estação Nacional de Fruticultura Vieira Natividade, sob orientação da Dra. Claudia Sánchez.

1. Introdução

1.1. Fruticultura e alimentação saudável

A fruticultura é um dos setores mais dinâmicos da economia Portuguesa, refletindo o aumento e diversificação do consumo de frutas, mas também o investimento de muitos empresários na agricultura, ao longo dos últimos anos. Para além destes, as terras abandonadas e subaproveitadas, o aumento da área regada, a existência de técnicos qualificados disponíveis, a vontade do “regresso às origens” ou a necessidade de afastamento do stress urbano, ajudaram a que este setor crescesse e evoluísse (1).

A maçã (*Malus domestica* Borkh.) é uma das frutas mais produzidas a nível mundial, com os maiores produtores localizados na China, Estados Unidos da América, Polónia, Turquia e Índia (2,3). A pera (*Pyrus communis* L.) também é produzida em abundância, principalmente na China, seguida da Itália, Estados Unidos da América, Argentina e Turquia (3,4).

Em todo o mundo, no ano de 2021, foram produzidos cerca de 93 milhões de toneladas de maçã e 25 milhões de toneladas de pera, sendo a Europa responsável pela produção de quase 12,5 milhões de maçã e aproximadamente 2 milhões de pera (5).

Segundo o recenseamento agrícola de 2019, as fruteiras aumentaram a sua superfície de forma generalizada em Portugal, comparativamente com os valores obtidos no recenseamento anterior realizado em 2009. Os pomares de macieiras tiveram um aumento de 15% e as pereiras 5%, relativamente ao ano de 2009 (6).

De acordo com os dados estatísticos da Organização das Nações Unidas para a Alimentação e Agricultura, Portugal tem produzido mais maçã e pera, de uma forma geral (Figura 1) (5).

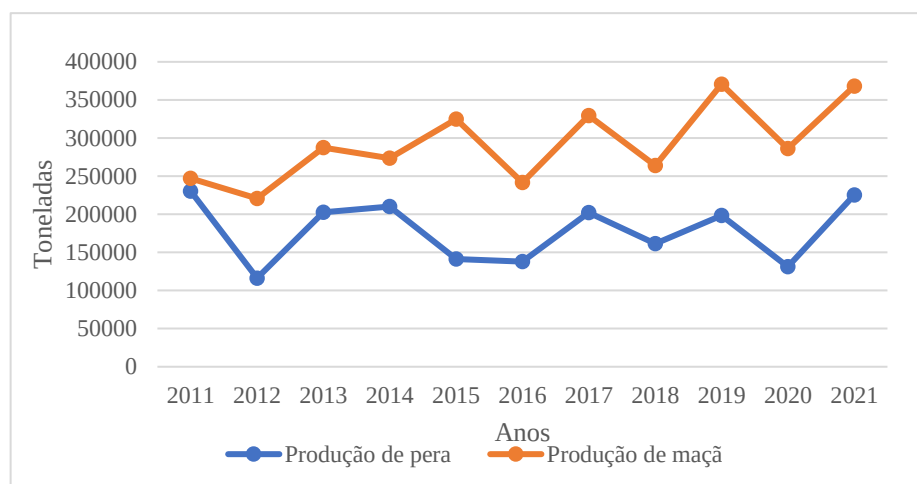


Figura 1 - Evolução da produção de peras e maçãs em Portugal (5).

Em 2021, a zona centro do país possuía a maior superfície agrícola de macieiras, assim como de pereiras. Contudo, a produção de maçã tem oscilado entre anos de maior produção, entre a zona centro e norte. A pera é consistentemente mais produzida na zona centro (7).

Portugal é o terceiro país com uma maior percentagem de consumidores de fruta da União Europeia (Figura 2). Estes dados são referentes a 2019 e indicam que, 67,2% dos portugueses comem pelo menos uma peça de fruta por dia. A percentagem correspondente à média europeia é de 55,8% (8).

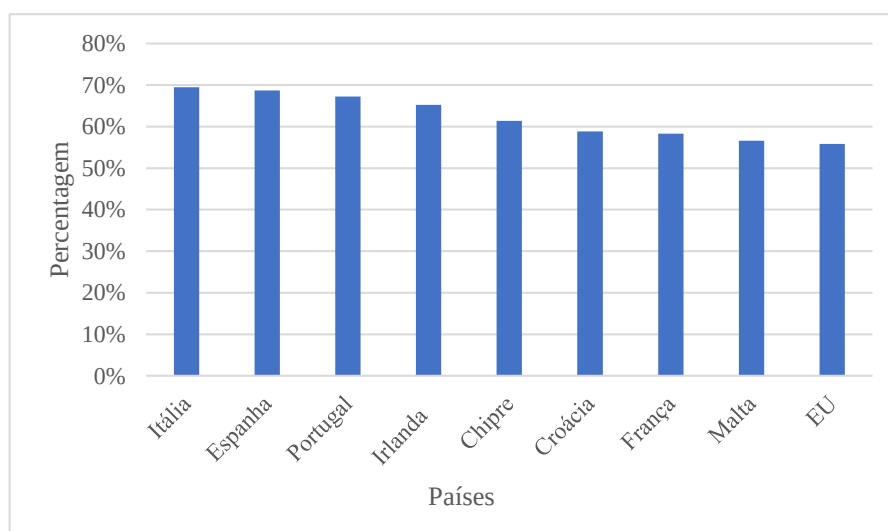


Figura 2 - Percentagem de pessoas que comem pelo menos uma peça de fruta por dia (8).

Em Portugal, são consumidos cerca de 30,5 kg de maçã por habitante por ano e 7,2 kg de pera, num total de 78,3 kg de frutos frescos. Percebemos também que, o consumo de fruta per capita tem vindo a aumentar ao longo dos anos (Tabela 1) (9).

Tabela 1 - Consumo humano de frutos per capita (kg/ hab.) por espécie frutícola, por ano (9).

Espécie frutícola	Período		
	2018/2019	2019/2020	2020/2021
Maçã	26,1	29,1	30,5
Pera	7,20	7,90	7,20
Pêssego	8,60	8,30	6,60
Uva de mesa	4,10	4,30	4,80
Laranja	26,6	28,2	29,2
Total das principais espécies	72,6	77,8	78,3

Nota: 2020/2021 são dados provisórios

O crescimento do consumo de frutos per capita pode estar relacionado com a crescente preocupação das pessoas para a adoção de uma dieta saudável e equilibrada. De acordo com o estudo “ShopperTrends” da Nielsen, 74% dos portugueses procura ter uma alimentação mais saudável, preocupando-se com os ingredientes que compõem as suas refeições (10).

A consciencialização dos consumidores que uma alimentação saudável traz mais saúde aumenta cada vez mais, contudo, em 400 a.C. Hipócrates já dizia “Que o alimento seja o teu remédio e o remédio seja o teu alimento”. Desde então, que os alimentos saudáveis são considerados uma fonte de saúde, mantendo o sistema imunitário mais forte e permitindo-nos alcançar o bem-estar físico e mental (11).

No ano de 2019, a pandemia de COVID-19 veio redefinir os nossos comportamentos humanos, refletindo-se nas escolhas alimentares. Desde então, passámos a priorizar a saúde, procurando o bem-estar, o valor e a identidade nos produtos (11,12).

Segundo o Programa Nacional para a Promoção da Alimentação Saudável (PNPAS), a alimentação inadequada é uma das principais causas evitáveis de doenças crónicas não transmissíveis, nomeadamente da obesidade, doenças oncológicas, doenças cérebro-cardiovasculares e da diabetes mellitus tipo 2 (13). Este programa tem sido

bastante relevante para o aumento da conscientização sobre a alimentação saudável e consequentemente, para o aumento do consumo de fruta.

Uma das tendências alimentares para 2023, consiste na descodificação da saúde, ou seja, tornar a comunicação nas embalagens mais simples (14).

Um estudo da *International Food Information Council* (IFIC), com o objetivo de analisar a importância que os ingredientes desempenham nas atitudes alimentares e nos hábitos de compra dos consumidores americanos, mostrou que existe um forte interesse na temática, que a palavra “limpo” é popular e a saúde é prioridade (15). Quase dois terços (63%) dos adultos dizem que os ingredientes de um alimento ou bebida têm pelo menos uma influência moderada no que compram, grande parte consulta a lista de ingredientes e prestam mais atenção à lista de ingredientes que há cinco anos atrás (15).

Assim, o objetivo do presente estudo é caracterizar os frutos de algumas das variedades regionais da zona de Alcobaça, pertencentes à coleção de variedades da ex-Estação Nacional de Fruticultura Vieira Natividade, do atual Polo de Atividades do INIAV, I.P.. Esta caracterização recai essencialmente no estudo do perfil de açúcares, com a finalidade de avaliar a qualidade e identificar cultivares de pera e maçã com potencial interesse tecnológico para o desenvolvimento de ingredientes naturais, com elevado poder adoçante para a indústria alimentar.

1.2. Importância da maçã em Portugal

A maçã é o fruto da macieira (*Malus domestica* Borkh.), árvore frutícola pertencente à família das Rosaceae. É um dos frutos mais cultivados e um dos mais utilizados pelos seres humanos na sua alimentação (16). Em Portugal, é a espécie com maior peso no volume de produção de frutos frescos, sendo a região do Ribatejo e Oeste a principal produtora (17).

Em 2021, segundo os dados das estatísticas agrícolas, publicadas pelo Instituto Nacional de Estatística (INE), na zona Oeste, as variedades dos grupos ‘Gala’ e ‘Fuji’ aumentaram consideravelmente e as ‘Golden’, ‘Reinetas’ e ‘Granny Smith’ mantiveram produções semelhantes às do ano precedente. Foram produzidas 368,2 mil toneladas de maçã, tendo sido a segunda maior produção nos últimos 35 anos, só ultrapassada pela do ano 2019, com cerca de 370 mil toneladas (18).

A maçã de Alcobaça tem a certificação IGP (Indicação Geográfica Protegida). Esta certificação é emitida pela União Europeia e assegura que estas maçãs são produzidas na região Oeste, atendendo às suas características, qualidade e processos de produção de acordo com as tradições que as tornaram tão conhecidas e apreciadas (19,20).

A maçã de Alcobaça representa uma mais valia para a economia local e nacional, contribuindo também para a valorização laboral e desenvolvimento rural (21). Atualmente, são nove, as variedades certificadas como Maçã de Alcobaça: ‘Golden Delicious’, ‘Red Delicious’, ‘Royal Gala’, ‘Casanova de Alcobaça’, ‘Fuji’, ‘Granny Smith’, ‘Reineta’, ‘Jonagold’ e ‘Pink’ (22).

Cada variedade de maçã possui um conjunto único de características que incluem tamanho, cor, firmeza, forma, textura, sabor, suculência, aroma e valor nutricional que influenciam a qualidade da mesma e os produtos que originam (3).

1.3.Importância da pera em Portugal

A pera é o fruto edível da pereira (*Pyrus communis* L.), da família Rosaceae, que apresenta forma variada consoante a variedade (23).

Cerca de 85% da produção nacional de pera, encontra-se na região do Ribatejo e Oeste e de acordo com as estatísticas agrícolas 2021 do INE, a produção de 2021 registou um valor de 225,4 mil toneladas, refletindo um acréscimo de 72% face à campanha anterior, uma das piores campanhas da última década (18,24).

Em 2021, a produção de pera em Portugal ocupou o segundo lugar no total de frutos frescos e assenta sobretudo na variedade da pera ‘Rocha’, variedade com muito boas características comerciais e grande aptidão para a exportação, devido à elevada resistência face à conservação, transporte e manuseamento (24,25).

A Pera Rocha do Oeste DOP é o fruto da variedade de pereira ‘Rocha’, obtida na região do Oeste, da espécie *Pyrus communis* L (26). O selo da União Europeia, Denominação de Origem Protegida (DOP), foi obtido em 2003 e garante que a produção da pera Rocha do Oeste se faz neste território específico e que todo o seu processo se rege por regras e saberes certificados (27).

Esta variedade de pera é uma das frutas mais relevantes em Portugal, tanto pela sua produção, como em termos económicos e de exportação (28). A pera é a principal exportação do setor frutícola, tendo sido exportada mais de 50% da sua produção, na maioria dos anos, ao longo dos dez últimos anos. Assim, Portugal tem saldo positivo na balança comercial de pera, sendo autossuficiente nesta cultura (24).

1.4. Variedades regionais de peras e maçãs

No início dos anos 70, os pomares portugueses iniciaram a sua industrialização. As árvores dispersas de variedades regionais foram substituídas por variedades importadas que eram mais produtivas, apresentavam características organoléticas mais interessantes ou maior poder de conservação (29,30). Esta industrialização foi resultado de uma forte política de incentivo à reforma na fruticultura, que proporcionava condições favoráveis aos agricultores (29).

Desde então, que muitas das variedades regionais de fruteiras no século XXI, desapareceram ou estão em vias de extinção (29,30).

Atualmente, a preservação das variedades regionais de pomóideas retarda a erosão genética (30). Estas variedades têm grande interesse para a agricultura biológica e para os programas de melhoramento de plantas, uma vez que estão mais adaptadas às condições ambientais locais e portanto, são mais resistentes às principais pragas e doenças que podem afetar as culturas da região de origem (30,31). Além do mais, estas variedades apresentam uma composição química muito variada, com um perfil nutricional que as caracteriza e, em muitos casos, as diferencia das variedades comerciais, como por exemplo a composição fenólica e a capacidade antioxidante, constituindo uma fonte de compostos nutricionais de grande interesse (3).

Assim, existem no país algumas entidades que têm a importante missão de preservar estas variedades regionais. Tal é o caso da Estação Nacional de Fruticultura Vieira Natividade (ENFVN), do Instituto Nacional de Investigação Agrária e Veterinária, I.P., onde existem atualmente uma coleção de macieiras com 58 variedades e uma de pereiras com 48 variedades.

Neste trabalho, pretende-se estudar cinco variedades regionais de maçã, ‘Pêro de Borbela’, ‘Pardo Lindo’, ‘Repinau’, ‘Pêro Coimbra’ e ‘Noiva’ e seis variedades de pera, ‘Bela Feia’, ‘Torres Novas’, ‘Carapinheira’, ‘Carapinheira Roxa’, ‘Lambe-os-Dedos’ e ‘Amorim’. Estas variedades pertencem à coleção da Estação Nacional de Fruticultura Vieira Natividade (ENFVN) e são cultivadas na região de Alcobça.

A época de floração destas variedades regionais de maçã ocorre dos meados aos finais de abril, embora as suas épocas de maturação sejam diferentes. No final de agosto,

a variedade ‘Pêro Coimbra’ atinge o seu estado ótimo de maturação, enquanto que a ‘Pardo Lindo’ e a ‘Repinau’ têm uma maturação mais tardia, atingindo este estado em meados de setembro. A variedade ‘Pêro de Borbela’ também apresenta uma maturação tardia, nos finais de setembro. A ‘Noiva’ é uma variedade muito tardia, atingindo o seu estado de maturação no fim de outubro.



Fotos: Patrícia Vicente e Rui de Sousa

Figura 3 - Variedades regionais de maçã da Estação Nacional de Fruticultura Vieira Natividade (ENFVN), selecionadas para o presente estudo.

No caso das variedades regionais de pereira, a época de floração ocorre geralmente na primeira quinzena do mês de abril. A ‘Carapineira’ é a variedade que tem uma época de maturação mais precoce, no final de julho. As variedades ‘Torres Novas’ e ‘Carapineira Roxa’ têm como época de maturação meado de agosto, enquanto que a ‘Amorim’ e a ‘Lambe-os-dedos’ só atingem a sua maturação no final de agosto, embora todas tenham uma época de maturação média. A ‘Bela Feia’ é a variedade mais tardia e que só atinge a sua maturidade no início de setembro.



Fotos: Patrícia Vicente e Rui de Sousa

Figura 4 - Variedades regionais de pera da Estação Nacional de Fruticultura Vieira Natividade (ENFVN), selecionadas para o presente estudo.

1.5. Composição nutricional

A maçã é uma fonte de fibra e de vitamina C, sendo também rica em antioxidantes. O seu consumo regular pode contribuir para reduzir os níveis de colesterol no sangue contribuindo assim, para a diminuição do risco cardiovascular (32,33).

De acordo com a Tabela da composição de alimentos do Instituto Nacional de Saúde Doutor Ricardo Jorge, a maçã sem casca possui uma parte edível de 80%, sendo esta constituída por 83,8 g de água por cada 100 g de maçã (Tabela 2). A nível energético, a maçã aporta entre 61 e 64 kcal/100g, sendo cerca de 84,5% procedentes dos hidratos de carbono, 7,2% dos lípidos, 5,9% das fibras, 1,3% das proteínas e 1% dos ácidos orgânicos (34).

Tabela 2 - Composição nutricional da maçã sem casca, adaptado de (34,35).

	<i>Energia</i> (kcal/100g)	<i>Água</i> (g/100g)	<i>Fibra</i> (g/100g)	<i>Açúcares</i> (g/100g)	<i>Proteína</i> (g/100g)	<i>Lípidos</i> (g/100g)	<i>Vitamina C</i> (mg/100g)
<i>Maçã sem casca</i>	61	83,8	1,9	12,7	0,2	0,5	5
<i>Maçã com casca</i>	64	82,9	2,1	13,4	0,2	0,5	7

A pera é uma ótima fonte de fibras, vitaminas, especialmente A e C (Tabela 3), e minerais como sódio, potássio, cálcio, magnésio e ferro, representando uma fonte de compostos bioativos benéficos à saúde (36).

Esta fruta contribui favoravelmente para a saúde intestinal, uma vez que a fibra e a água, cooperam para o bom funcionamento do intestino, evitando prisão de ventre (37).

Tabela 3 - Composição nutricional da pera, adaptada de (38).

<i>Variedade</i>	<i>Energia (kcal/100g)</i>	<i>Água (g/100g)</i>	<i>Fibra alimentar (g/100g)</i>	<i>Hidratos de carbono (g/100g)</i>	<i>Proteína (g/100g)</i>	<i>Gordura (g/100g)</i>	<i>Vitamina C (mg/100g)</i>
<i>Pera (5 variedades)</i>	47,00	85,10	2,20	9,40	0,30	0,40	3

A energia necessária aos vários processos fisiológicos provém essencialmente dos hidratos de carbono que obtemos da alimentação (39). Os hidratos de carbono são um grupo de macronutrientes, do qual fazem parte os açúcares (mono e dissacáridos), os polióis, os oligossacáridos e os polissacáridos, dependendo da sua estrutura química (40,41).

A ingestão de maçã ou pera com casca é uma fonte acrescida de fibras, açúcares, vitaminas, minerais e também de antioxidantes (32,41–44).

As fibras são polissacáridos que não são digeridos e que têm benefícios para a saúde. Na maçã e na pera existem fibras solúveis e insolúveis (45,46). As fibras solúveis são responsáveis por absorver água, formando um género de gel no intestino, que se move ao longo do intestino, que permite o esvaziamento do mesmo e promove a saciedade (47,48). Por outro lado, as fibras insolúveis estimulam os movimentos intestinais, não se dissolvendo em água (47–49). Para além da redução do risco de desenvolvimento de algumas doenças como obesidade, diabetes, distúrbios gastrointestinais como a prisão de ventre, doenças cardiovasculares ou cancro, alimentos com elevado teor em fibras têm um alto poder saciante (41).

Ao nível dos minerais, as pomóideas contém potássio, cálcio, fósforo, magnésio e ferro (45,50). O cálcio é o elemento que existe em maior quantidade no nosso organismo e o fósforo o segundo. Ambos podem ser encontrados no tecido ósseo e nos dentes. O ferro é essencial para a produção de hemoglobina e eritrócitos, enquanto que o magnésio tem uma função muito importante ao nível da transmissão neuromuscular, em conjunto com o cálcio. O potássio está relacionado com a osmolaridade dos fluidos corporais e

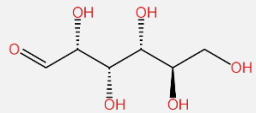
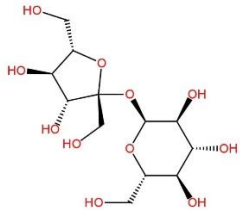
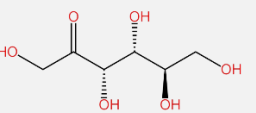
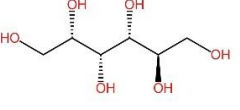
respetivos equilíbrios osmóticos intra e extracelulares, em associação com o sódio e o cloro (51).

Os antioxidantes são responsáveis pela cor, sabor e aroma da fruta (52). A atividade antioxidante é superior na casca, apesar de alterar consoante a variedade (43,51). Os flavonóis, os flavanóis e as procianidinas são os principais antioxidantes presentes na casca da maçã, ao passo que na polpa, os flavanóis e hidroxycinamatos asseguram esta função (51). Têm a capacidade de estabilizar os radicais livres e impedem o dano celular, prevenindo doenças crónicas como o cancro, a asma, o Alzheimer, melhoram a saúde óssea e gastrointestinal e a função pulmonar (41,42,52).

1.5.1. Açúcares

Na maçã e na pera, os principais açúcares presentes na sua composição e que influenciam a doçura das mesmas são a sacarose, a glucose, a frutose e o sorbitol (53). Todos estes são açúcares nutritivos, contudo têm diferentes índices glicémicos e diferentes sensações de doçura (Tabela 4).

Tabela 4 - Propriedades dos açúcares e polióis presentes na pera e maçã (54).

Nome	Estrutura	Classe	Índice Glicémico	Doçura relativa	Calorias (kcal/g)
Glucose		Monossacarídeo	100	69	4
Sacarose		Dissacarídeo (glucose + frutose)	61-65	100	4
Frutose		Monossacarídeo	19-23	114	4
Sorbitol		Açúcar-álcool	9	50-70	2,5

O índice glicêmico (IG) representa a velocidade com que os hidratos de carbono presentes nos alimentos são digeridos, transformados em glucose, absorvidos e incorporados na corrente sanguínea. Assim, alimentos com baixo IG são decompostos lentamente. O contrário acontece com alimentos de elevado IG, que são digeridos e absorvidos rapidamente, originando picos de glucose no sangue, sendo necessária maior liberação de insulina, pelo pâncreas, para normalização. Uma digestão lenta é preferível em função de uma digestão rápida, sendo preferencial o consumo de alimentos com IG baixo (55).

Glucose: é um monossacarídeo e é um dos hidratos de carbono mais importantes a nível biológico, já que as células a usam como fonte de energia e como intermediário metabólico. A glucose é a fonte de energia mais importante para o nosso corpo, com especial relevância para o cérebro. Importa também referir que a glucose tem o maior índice glicêmico e serve de referência para os outros açúcares (54).

Sacarose: também conhecida como açúcar de mesa, é o dissacárido com maior relevância no nosso dia-a-dia e representa cerca de 55% do consumo total de açúcares. Tem um baixo custo de produção, sendo por isso muito utilizada na indústria alimentar, quer como adoçante ou como agente de volume, por exemplo (54).

Frutose: é o açúcar natural mais doce, com maior poder adoçante, e com índice glicêmico relativamente baixo, na ordem dos 19 (56). Este monossacárido está naturalmente presente nas frutas e em menor quantidade em alguns vegetais. Na indústria alimentar, é comumente usado em xaropes de açúcar (54).

Sorbitol: é um poliol ou álcool de açúcar e uma alternativa aos açúcares simples, pois tem um IG baixo e uma doçura relativa que ronda os valores da glucose (54). Contudo, este poliol não é usado unicamente como adoçante, tendo também função estabilizadora, agente de volume, espessante e humectante (57). Habitualmente é usado em alimentos dietéticos, pastilhas elásticas, comprimidos e pastas dos dentes (37).

Na maçã, os açúcares que se encontram em maior quantidade são a frutose, sacarose e glucose, sendo que na pera, a frutose e o sorbitol, são na generalidade das vezes, maioritários (43,58). Contudo, a concentração, assim como as características funcionais e químicas variam consoante a variedade em estudo, o seu estado de maturação e fisiológico, a parte do fruto analisada, entre outros fatores (51).

Para além da sua capacidade adoçante, os açúcares têm grande interesse para a indústria alimentar pois são capazes de aperfeiçoar a aparência e consistência dos alimentos, melhorar a textura ou adicionar viscosidade. Além disso, podem ser usados como conservantes em certas situações, ou reproduzirem o aroma a caramelo, atendendo à reação de Maillard (54).

1.6. Parâmetros de qualidade

A determinação de parâmetros físicos e químicos permite avaliar a qualidade do fruto. A sua qualidade pode ser influenciada por fatores pré-colheita (fatores genéticos, ambientais, tipo de solo, práticas culturais, nutrição, etc.) ou pós-colheita (manuseamento, transporte e condições de armazenamento). Porém, a qualidade pode ser um conceito bastante subjetivo e que depende do observador, pelo que deve ser aferida através de parâmetros objetivos (58).

Para avaliar a qualidade dos frutos existem métodos destrutivos e não destrutivos. Os métodos convencionais são maioritariamente destrutivos (58). Os principais parâmetros analisados para determinar a qualidade dos frutos, quer à colheita quer durante a conservação, são os seguintes: cor, peso, altura, diâmetro, forma (relação altura/diâmetro), firmeza, pH, acidez titulável, matéria seca e teor de sólidos solúveis totais.

Tanto a maçã, como a pera, estão sujeitas a uma norma específica de comercialização que está estabelecida no Anexo I, parte B, do Reg. de Execução (UE) n.º 543/2011 (59). Estes frutos necessitam de obedecer às características mínimas definidas (estarem inteiros, limpos, praticamente isentos de parasitas, etc.), e serem classificados segundo a sua categoria de comercialização (Categoria Extra, I ou II). Nesta norma, também são verificadas as características mínimas de maturação, em que se tem em consideração os seguintes parâmetros: aspeto morfológico, sabor, firmeza e índice refratométrico (59). Contudo, para cada cultivar ou variedade em particular, devem determinar-se os valores ótimos para cada parâmetro de qualidade, que além de depender dos fatores anteriormente mencionados, dependerão também do destino que irá a ser dado à fruta (por exemplo, consumo imediato, mercado interno, mercado externo, etc.).

1.6.1. Colorimetria e Biometria

A colorimetria e a biometria permitem avaliar o aspeto externo geral do fruto com recurso a técnicas não destrutivas (58,60). A cor da epiderme do fruto é um parâmetro essencial, que influencia bastante o consumidor no ato da compra (61). Este parâmetro, junto com o calibre ajudam na previsão da altura da colheita (62).

1.6.2. Firmeza

A firmeza é uma medida da consistência da fruta e é determinada em função da resistência à penetração na polpa da fruta com rutura, sendo indicativa do seu estado de maturação (58,60,63). Este parâmetro experimenta uma diminuição natural à medida que os frutos se aproximam da maturação organolética, devido à ação de diversas enzimas que degradam as membranas celulares.

Durante o período de conservação pós-colheita, a firmeza também vai sofrendo alterações, que dependerão das condições em que está armazenada a fruta (64).

Frutos com baixa firmeza, estarão mais predispostos a danos físicos e consequente presença de patógenos, apresentando um tempo de vida útil muito mais reduzido (64).

1.6.3. Teor de sólidos solúveis totais

O teor de sólidos solúveis totais de um fruto é obtido através da medição do índice refractométrico, que é expresso em graus de Brix (°Brix) e é usado como indicador do conteúdo de açúcares totais das frutas, ou seja, indicador da doçura (60,64). Este parâmetro tem cada vez mais importância no que diz respeito à qualidade organolética, uma vez que o consumidor é cada vez mais exigente e procura por frutas mais saborosas (60). Durante o processo de maturação verifica-se uma acumulação de açúcares, como consequência da hidrólise do amido em açúcares mais simples (65).

1.6.4. pH e acidez titulável

O pH dos frutos é comumente ácido, sendo o ácido málico, o ácido cítrico e o ácido tartárico, os três principais ácidos orgânicos encontrados na fruta. No caso da pera e da maçã, o ácido málico é o que se encontra em maior proporção (64).

Com o avanço da maturação, a acidez dos frutos decresce e, conseqüentemente, o pH aumenta. Este aumento de pH poderá, não só, aumentar a vulnerabilidade do fruto à colonização por patógenos, como também contribuir à diminuição da qualidade organolética, uma vez que deve existir um equilíbrio entre acidez e doçura (62,64).

1.6.5. Índice de qualidade

O índice de qualidade (IQ) ou Índice de Thiault, relaciona a acidez total com a quantidade de açúcares totais, segundo a equação (Eq. I) (66,67):

$$\text{Índice de Thiault} = \text{SST} + 10 * \text{AT} \quad (\text{Eq. I})$$

SST: Sólidos solúveis totais, em g/L

AT: Acidez total, em g/L de ácido málico

A percepção sensorial que temos da maçã e da pera, está muito relacionada com o equilíbrio dado pela relação entre sólidos solúveis totais e a acidez total, sendo por esta razão o índice de Thiault considerado um índice de qualidade (66).

Segundo este índice de qualidade, quanto maior for o valor, melhor será a qualidade do fruto. Normalmente, o valor mínimo aceitável na época da colheita deverá ser 170, sendo aconselhável um valor igual ou superior a 180 (68).

1.6.6. Percentagem de matéria seca

A percentagem de matéria seca está fortemente influenciada pelas condições de pré-colheita, nomeadamente o tipo de solo e a nutrição, e é considerada um bom indicador da qualidade da fruta na pós-colheita, ao contrário da maioria dos outros parâmetros que fornecem informação sobre o estado de maturação (69).

A matéria seca representa o somatório dos carboidratos solúveis e insolúveis (açúcares e amido, respetivamente), proteínas, fibras, minerais e outros compostos. Corresponde à proporção entre o peso seco da fruta e o peso fresco e é expresso em percentagem (69,70).

Num estudo com maçã ‘Royal Gala’, a matéria seca mostrou ser também um bom indicador de qualidade, pois maçãs com elevada % de matéria seca tiveram mais aceitação por parte dos consumidores (70).

1.7. Cromatografia líquida de alta eficiência

1.7.1. Fundamento Teórico

A cromatografia é uma técnica de separação baseada na distribuição dos componentes de uma mistura de um fluído (fase móvel ou eluente) e um adsorvente (fase estacionária) (71).

A cromatografia líquida de alta eficiência, comumente conhecida como HPLC, tem como objetivo separar, identificar e quantificar cada um dos componentes que se encontram numa mistura (72). No HPLC, a fase estacionária é um sólido, contido numa coluna com um empacotamento específico para a separação cromatográfica dos componentes, na que podem variar as dimensões (diâmetro e comprimento), o recheio da fase estacionária (fase reversa, fase normal, HILIC), os diâmetros das partículas (e se a mesma é esférica ou irregular), o recobrimento de carbono, a área superficial, entre outros (73).

Este tipo de sistemas cromatográficos são constituídos pelos componentes que se esquematizam na Figura 5 e que se enumeram a seguir (72,74):

- Reservatório das fases móveis – onde se encontram os eluentes que vão ser utilizados como fase móvel;
- Sistema de bombas – promove a circulação da fase móvel ao longo de todo o sistema. A bomba pode ser programada para operar a fluxo constante ou variar ao longo do tempo, assim como poderemos ter eluições isocráticas, em que a proporção de fase móvel é constante ao longo do tempo, ou em gradiente, em que a proporção pode variar;
- Sistema de desgaseificação – remove potenciais gases que estejam dissolvidos na fase móvel, de forma a melhorar a performance do detetor;
- Amostrador automático – recolhe automaticamente a quantidade de amostra programada do frasco correspondente;
- Injetor – responsável por introduzir a amostra na coluna;
- Coluna cromatográfica – separa os diferentes componentes da amostra, pois o seu interior é constituído pela fase estacionária que é responsável por esta separação;

- Forno – permite o aquecimento da coluna, de forma a que a amostra seja separada a uma determinada temperatura, influenciando o fator de retenção e a seletividade do método;
- Detetor – emite um sinal para o software do computador;
- Software do computador – processa o sinal e gera um gráfico que relaciona uma determinada grandeza com o tempo de retenção, chamado de cromatograma;
- Contentor para resíduos (esgoto) – compartimento de recolha da fase móvel e da amostra, após terem percorrido todo o sistema.

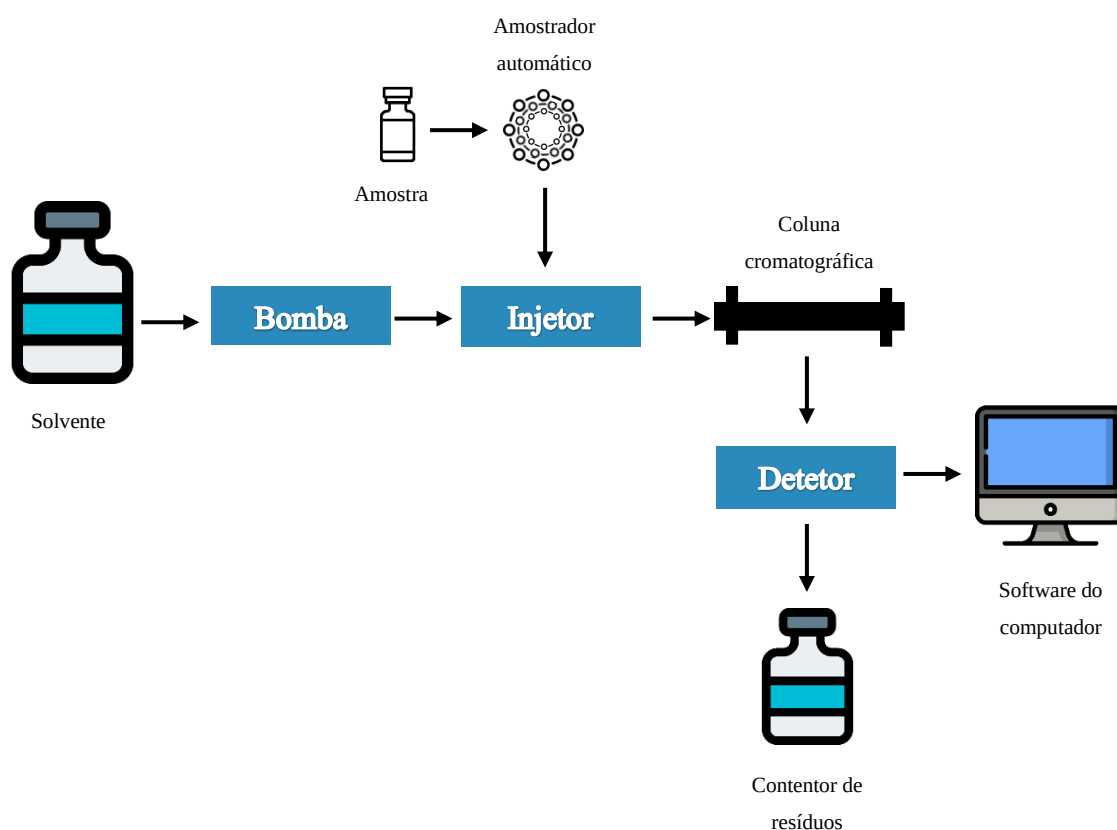


Figura 5 – Sistema de Cromatografia líquida de alta eficiência. Adaptado de (75).

Esta técnica pode ser aplicada a diversos tipos de compostos, tendo uma excelente precisão e robustez, embora seja uma técnica com custos muito elevados (76). É muito usada na indústria farmacêutica e alimentar, não só na investigação e no desenvolvimento, mas também para tarefas rotineiras como no controlo de qualidade (72).

O detector escolhido para a análise, deve ser sensível o suficiente para registrar as oscilações do sinal, do material eluído (72). Existem diversos tipos de detectores, sendo que os mais usados na grande maioria das análises são os detectores do tipo UV/Vis.

O detector de arranjo de fotodíodos (PDA) é do tipo UV/Vis, que faz passar um espectro de luz completo, pela célula da amostra. Após atravessar a amostra, a luz é separada em comprimentos de onda individuais e enviada para a matriz de díodos, onde o fotodíodo converte a luz em sinais elétricos (78). Este detector, para além de ser mais sensível que o UV/Vis, permite também realizar determinações em vários comprimentos de onda em simultâneo.

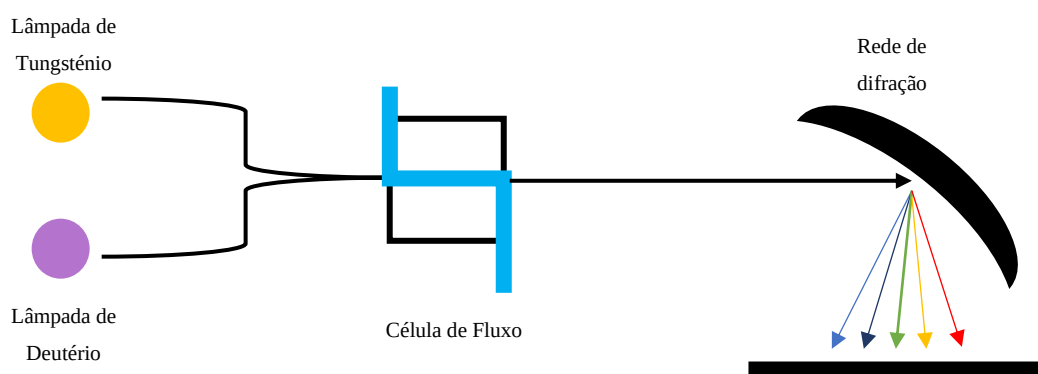


Figura 6 - Diagrama do sistema óptico detector de arranjo de fotodíodos (PDA). Adaptado de (77).

Embora este detector tenha como requisito o analito possuir um cromóforo, não constitui uma restrição ao uso do mesmo, uma vez que a absorção dos açúcares é observada a baixos comprimentos de onda, como 200 nm (79,80).

Todavia, na quantificação de açúcares solúveis, um dos detectores mais utilizados é o HPLC-IR, detector de índice de refração (53). Este detector embora tenha pouca sensibilidade e só se aplique em análises isocráticas é considerado um detector universal no HPLC (81).

O detector IR possui uma célula de vidro que está dividida em dois compartimentos, nomeadamente a célula de referência e a célula de amostra. Quando um feixe de luz incide sobre estas duas câmaras, se ambas estiverem cheias com eluente, o feixe não se altera, ou seja, não há refração da luz. No entanto, quando a célula da amostra está cheia com a

solução de amostra, ocorre refração do feixe incidente devido à diferença do índice de refração dos dois compostos (81).

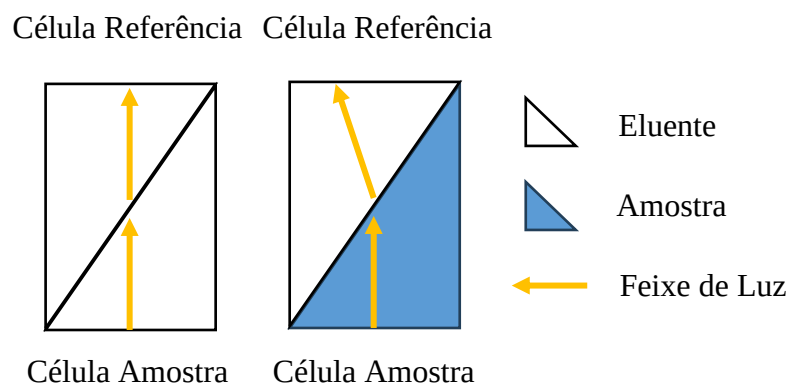


Figura 7 - Refração do feixe de luz na célula bicompartimentada do detetor IR. Adaptado de (77).

No que diz respeito à estabilidade, este tipo de detetor é bastante sensível a alterações de temperatura e de pressão. Estes parâmetros devem ser controlados com precisão de forma a obter uma linha de base sólida (79).

2. Materiais e métodos

2.1. Amostras

As amostras analisadas foram recolhidas durante a colheita de 2021 e 2022, cinco variedades regionais de maçã e seis de pera. Os frutos de cada variedade foram colhidos na data ótima de colheita, num período compreendido entre as últimas semanas dos meses de julho e setembro. Os parâmetros de qualidade foram analisados imediatamente a seguir à colheita e, no final, foram feitos três sumos de uma amostra compósita de cada variedade (5 frutos x sumo), em que foram retiradas amostras de 5 mL de cada um deles, após homogeneização. Estas amostras foram em seguida congeladas a -20°C, até ao momento das análises cromatográficas.

Tabela 5 – Códigos de identificação das amostras congeladas, segundo a variedade, o ano e o sumo.

Sumo	Pera 2021					
	<i>Carapinheira</i>	<i>Carapinheira Roxa</i>	<i>Torres Novas</i>	<i>Bela Feia</i>	<i>Amorim</i>	<i>Lambe-os-dedos</i>
1	C1	CR1	TN1	BF1	A1	L1
2	C2	CR2	TN2	BF2	A2	L2
3	C3	CR3	TN3	BF3	A3	L3

Sumo	Maçã 2021				
	<i>Noiva</i>	<i>Pardo Lindo</i>	<i>Pêro de Borbela</i>	<i>Pêro Coimbra</i>	<i>Repinau</i>
1	N1	PL1	PB1	PC1	R1
2	N2	PL2	PB2	PC2	R2
3	N3	PL3	PB3	PC3	R3

Sumo	Pera 2022					
	<i>Carapinheira</i>	<i>Carapinheira Roxa</i>	<i>Torres Novas</i>	<i>Bela Feia</i>	<i>Amorim</i>	<i>Lambe-os-dedos</i>
4	C4	CR4	TN4	BF4	A4	L4
5	C5	CR5	TN5	BF5	A5	L5
6	C6	CR6	TN6	BF6	A6	L6

Sumo	Maçã 2022				
	<i>Noiva</i>	<i>Pardo Lindo</i>	<i>Pêro de Borbela</i>	<i>Pêro Coimbra</i>	<i>Repinau</i>
4	N4	PL4	PB4	PC4	R4
5	N2	PL5	PB5	PC5	R5
6	N3	PL6	PB6	PC6	R6

2.2. Reagentes

Na determinação dos parâmetros físico-químicos, nomeadamente na titulação ácido-base, foi usada uma solução de hidróxido de sódio (NaOH, Marca Merck) a 0,5 N.

Na cromatografia líquida de alta eficiência, os principais reagentes usados, destinaram-se à preparação da curva de calibração dos padrões de glucose, sacarose, frutose e sorbitol:

- D-glucose anidra ($C_6H_{12}O_6$), pertence à Fisher Scientific,
- D(+)-Sacarose ($C_{12}H_{22}O_{11}$), do laboratório Scharlab S.L.,
- D-Frutose ($C_6H_{12}O_6$), pertence à ThermoFisher, com pureza de 99%,
- D-Sorbitol ($C_6H_{14}O_6$), pertence à ThermoFisher, com uma pureza de 98%.

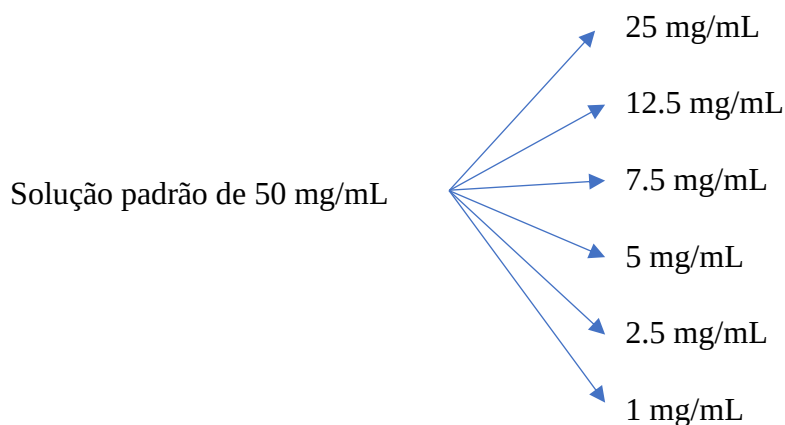
Todos os reagentes foram abertos no início dos trabalhos, assim como estiveram sempre armazenados num local ao abrigo da luz e da humidade, à temperatura ambiente.

A água Mili-Q que foi usada na preparação das soluções e como eluente cromatográfico, foi obtida nos laboratórios de Química do Instituto Nacional de Investigação Agrária e Veterinária, I.P. do Polo de Oeiras.

2.3. Preparação de soluções padrão

Preparam-se sete soluções padrão de cada um dos açúcares a analisar (glucose, sacarose, frutose e sorbitol), nas concentrações de 50, 25, 12.5, 7.5, 5, 2.5, 1 mg/mL.

Para tal, primeiramente foi preparada a solução padrão mãe, de concentração mais elevada e posteriormente, realizaram-se diluições com água Mili-Q de modo a obter as seguintes concentrações.



Com o objetivo de verificar se todos os açúcares estavam bem identificados e separados e se eluíam com uma boa separação, foi preparada também uma solução padrão com todos os açúcares juntos, com uma concentração final de cada açúcar de 50 mg/mL. Posteriormente, foram realizadas as mesmas diluições mencionadas acima.

2.4. Equipamentos

Nas diferentes análises da qualidade dos frutos, após a colheita, foram usados os seguintes equipamentos:

- Paquímetro digital Comecta (Comecta S.A., Barcelona, Espanha)
- Balança digital KERN
- Colorímetro Minolta CR 400 (Konica Minolta Inc., Tokyo, Japão)
- Titulador automático HANNA (HANNA Instruments, Romania)
- Penetrômetro TR Turoni (Turoni, Itália)
- Refratômetro digital HANNA (HANNA Instruments, Romania)
- Estufa (Memmert)
- Balança de precisão - Series 320 XB 320 M (Precisa)

Para a preparação das amostras para análise no HPLC:

- Centrifuga – Megafuge 16R (Thermo Fisher Scientific)
- Vortex – LP Vortex Mixer (Thermo Fisher Scientific)
- Balança de precisão - Series 320 XB 320 M (Precisa)
- Placa de agitação magnética

- Filtros Hidrofílicos 0,22 μ m, não estéreis, Clarify Syringe Filters (Phenomenex)
- Equipamento de HPLC (Figura 6) – Equipado com uma bomba P680 (Dionex, Thermo Fisher Scientific, USA), um injetor de amostras automático ASI-100 (Dionex, Thermo Fisher Scientific, USA), um compartimento da coluna termostaticado TCC-100 (Dionex, Thermo Fisher Scientific, USA), um detetor de arranjo de fotodíodos PDA-100 (Dionex, Thermo Fisher Scientific, USA) e um detetor de índice de refração 2142 (LKB Bromma, Sweden). Usou-se a coluna de separação Rezex RCM-monosaccharide Ca +2 (8%) de dimensões 300 x 7.8 mm (Phenomenex, USA), específica para a separação de monossacarídeos e de álcoois de açúcar. Os dados foram recolhidos por uma interface de cromatografia universal UCI-50 (Dionex, Thermo Fisher Scientific, USA) e tratados pelo software informático Chromeleon Software, versão 7.2.4.8179 (Dionex, USA).



Figura 8 - Sistema de Cromatografia Líquida de Alta Eficiência usado.

2.5. Procedimento experimental

2.5.1. Determinação de Parâmetros físico-químicos

Para as análises biométricas foi usado um paquímetro digital para as determinações do diâmetro e da altura, e os resultados foram expressos em milímetros. O diâmetro foi medido na zona equatorial de maior diâmetro, como se pode observar pela Figura 9, enquanto que a altura corresponde à maior distância longitudinal.



Figura 9 - Determinação do diâmetro.

A massa dos frutos, em gramas, foi determinada usando uma balança analítica digital, sendo cada fruto pesado individualmente.

A cor da epiderme dos frutos foi determinada à colheita, utilizando-se um Colorímetro Minolta CR 400 de acordo com o padrão C.I.E $L^*a^*b^*$ (Figura 10), onde L^* expressa o grau de luminosidade da cor medida ($L^* = 100$ = branco; $L^* = 0$ = preto); os valores a^* e b^* expressam a componente cromática do vermelho/verde e amarelo/azul, respetivamente e foram utilizados para calcular o ângulo Hue, $^{\circ}h = \arctan(b^*/a^*)$ que expressa a intensidade da tonalidade da cor (valor de $^{\circ}h = 0^{\circ}$ = cores púrpuras; $^{\circ}h = 90^{\circ}$ = coloração amarelada; $^{\circ}h = 180^{\circ}$ = coloração verde azulada; $^{\circ}h = 270^{\circ}$ = coloração azul). Para determinação destes parâmetros foram realizadas três leituras em pontos equidistantes na região equatorial dos frutos (Figura 11).

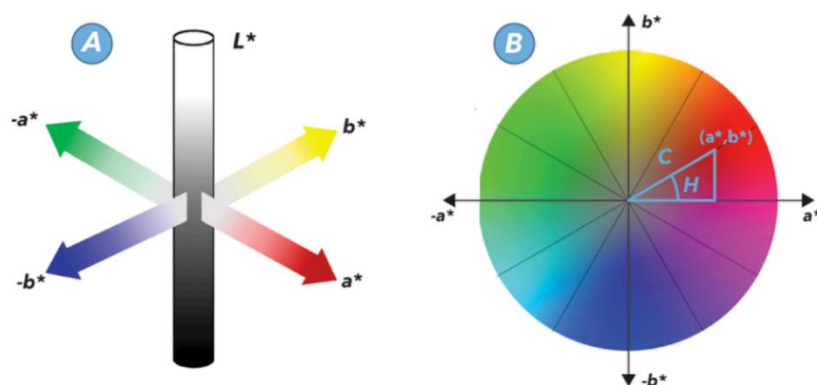


Figura 10 - A: Imagem tridimensional de cores CIELAB, em que L^* representa a luminosidade. B: Imagem bidimensional de cores CIELAB, em que H representa o ângulo da tonalidade e C representa a saturação (58).



Figura 11 - Determinação da cor.

Para a determinação da firmeza, removeu-se a epiderme do fruto em três zonas equatoriais equidistantes e efetuou-se a medição usando um penetrômetro Agrosta 14 USB (Figura 12), com uma ponta de 8 mm de diâmetro para peras e de 11 mm de diâmetro para maçãs. Os resultados foram expressos em $\text{kg}/0.5 \text{ cm}^2$ no caso das peras e em kg/cm^2 nas maçãs.

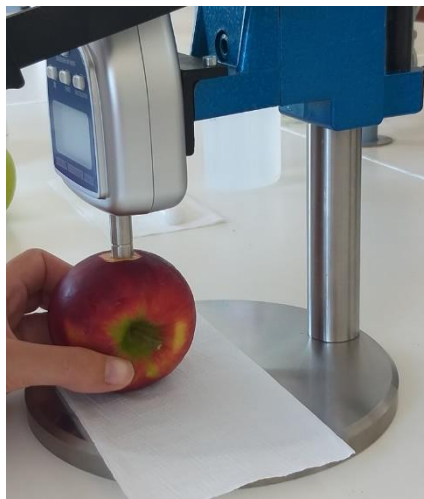


Figura 12 - Determinação da firmeza.

Para a determinação dos sólidos solúveis totais (SST) foram cortados quartos de frutos e espremidos de forma a retirar algumas gotas de sumo. O teor em sólidos solúveis totais foi avaliado por refratometria e os resultados foram expressos em °Brix. Para tal utilizou-se um refratômetro digital HANNA (Figura 13) previamente calibrado com água destilada, e com uma precisão de ± 0.2 °Brix.



Figura 13 - Determinação do teor de sólidos solúveis.

A determinação da massa seca foi realizada através do corte dos frutos, em fatias finas, até obter aproximadamente 10g de polpa com casca. As amostras foram colocadas em formas de alumínio e deixadas na estufa a 70°C, durante 48h. Foi realizada a medição do peso inicial e 48h depois, o peso final, na balança de precisão Precisa XB 320M, até peso constante.

Para a determinação da acidez, do índice de qualidade e consecutivamente para a técnica de HPLC, foram feitos três sumos com cinco frutos de cada variedade.

A acidez titulável (AT) foi determinada com recurso à volumetria ácido-base e expressa em gramas de ácido málico por litro de sumo. Para a determinação utilizou-se um titulador automático HANNA (Figura 14) previamente calibrado com soluções padrão. As amostras foram homogeneizadas e cerca de 5 mL do sumo foi diluído com água destilada até um volume final de 50 mL, e utilizado para a titulação. As determinações foram realizadas através do débito de hidróxido de sódio (NaOH) a 0,5 N, até um pH final de 8,2.



Figura 14 - Determinação da acidez.

Para determinar o índice de qualidade, usou-se a equação do Índice de Thiault (Eq. I), tendo em conta os valores da acidez total obtidos nos três sumos e os valores do teor de sólidos solúveis totais.

2.5.2. Determinação de açúcares pela técnica de HPLC

As amostras que se encontravam no congelador a -20°C, foram descongeladas, homogeneizadas e diluídas 1:7 (v/v) em água bi-destilada fria. Em seguida, foram homogeneizadas recorrendo-se ao vortex e seguidamente centrifugadas a 12000 rpm, durante 10 min, à temperatura de 4°C. Posteriormente, foram filtradas com um filtro 0,22 µm e congeladas até análise.

A análise foi realizada através de HPLC com auxílio de um detetor PDA e outro IR. A coluna de separação Rezex RCM-monosaccharide Ca +2 (8%) encontrava-se aquecida a 60°C. Nos frascos foram colocados 500 µl de cada amostra e injetou-se um volume de 40 µl de solução para análise, a um fluxo de 0,6 mL/min. A fase móvel foi água ultrapura, desgaseificada. A análise teve a duração de 30 min para cada injeção.

2.5.3. Tratamento de dados

A análise estatística dos dados foi realizada recorrendo ao programa informático RStudio 2023.03.1 (2009-2023 Posit Software, PBC). As médias dos resultados foram analisadas estatisticamente com nível de confiança de 95% ($p < 0,05$) através de uma análise de variância (ANOVA) a um fator. Recorreu-se ainda o teste de Tukey para calcular a existência de diferenças significativas entre as médias das variáveis em análise. Para avaliar os pressupostos da ANOVA, realizaram-se os testes de Levene e de Shapiro-Wilk.

Quando os pressupostos para a realização da ANOVA não foram verificados, realizou-se o teste Kruskal-Wallis, seguido do teste de Dunn de comparações múltiplas com ajuste do valor de p pelo método de Bonferroni.

3. Resultados e discussão

3.1. Análise dos parâmetros de qualidade

No presente estudo, para a análise dos parâmetros de qualidade só foi tido em conta o ano de 2022, em que foram analisadas 6 variedades de pera, 20 frutos/variedade, e 5 variedades de maçã, 15 frutos/variedade. O número de amostras de maçã variou, relativamente à pera, devido à escassez de produção, principalmente da maçã ‘Noiva’ e ‘Pêro de Borbela’.

3.1.1. Peso, Altura, Diâmetro e A/D (altura por diâmetro)

Nas amostras de peras estudadas, o peso, a altura e o diâmetro são bastante heterogêneos e variam, não só de variedade para variedade, como dentro da própria variedade (Tabela 6).

A pera ‘Amorim’ apresenta a menor dimensão e consequentemente o menor peso, seguida da variedade ‘Lambe-os-dedos’. Por oposição, a ‘Carapineira Roxa’ é a pera mais pesada e com maior diâmetro ou calibre.

Relativamente à forma, os frutos das variedades ‘Carapineira’ e ‘Carapineira Roxa’ são os mais arredondados (relação A/D próxima a 1), sendo que as peras ‘Bela Feia’ e ‘Amorim’ apresentam formas mais alongadas (Tabela 6 e Figura 4).

Tabela 6 - Peso, altura, diâmetro e relação A/D das variedades regionais de pera. Letras diferentes na mesma coluna indicam valores significativamente diferentes pelo teste Tukey para $p < 0,05$ e $n=20$.

Variedade	Peso (g)	Altura (mm)	Diâmetro (mm)	A/D
Carapineira	100,45±13,10b	57,83±6,06b	58,58±3,35b	0,99±0,11bc
Carapineira Roxa	116,88±15,57a	58,53±4,04b	61,82±2,82a	0,95±0,05c
Torres Novas	82,30±7,31c	58,40±4,39b	54,85±1,78c	1,06±0,07ab
Bela Feia	96,70±13,65b	63,95±4,85a	56,29±2,84bc	1,14±0,07a
Amorim	64,78±5,20d	54,59±3,55b	49,45±1,42d	1,10±0,07a
Lambe-os-dedos	69,51±7,77d	55,07±3,55b	51,40±3,96d	1,08±0,10a

No caso das maçãs, os frutos das variedades ‘Repinau’ e ‘Pêro de Borbela’ são as que apresentaram frutos de maior tamanho e peso (Tabela 7), sendo as maçãs ‘Pêro de Coimbra’ as de menor calibre, seguidas pelas ‘Pardo Lindo’.

Estas observações vão ao encontro do previamente descrito para estas variedades (Patrícia Vicente, comunicação pessoal), embora estes parâmetros possam variar com as condições de cada ano em particular (ex. condições climatológicas, nutrição, rega, etc). Importa destacar que neste ensaio as práticas culturais (nutrição, rega, poda, etc.) foram as mesmas para todas as variedades em estudo.

Tabela 7 - Peso, altura, diâmetro e relação A/D das variedades regionais de maçã. Letras diferentes na mesma coluna indicam valores significativamente diferentes pelo teste Tukey para $p < 0,05$ e $n=15$.

<i>Variedade</i>	<i>Peso (g)</i>	<i>Altura (mm)</i>	<i>Diâmetro (mm)</i>	<i>A/D</i>
<i>Noiva</i>	99,58±18,50b	50,56±4,62c	64,37±3,68ab	1,28±0,09a
<i>Pardo Lindo</i>	84,98±8,58b	53,62±2,71c	62,44±10,66b	1,17±0,19a
<i>Pêro de Borbela</i>	119,39±19,93a	58,09±6,26b	69,31±4,91a	1,20±0,12a
<i>Pêro Coimbra</i>	95,90±12,59b	61,32±4,19ab	60,71±2,99b	1,01±0,05b
<i>Repinau</i>	120,07±12,07a	65,38±3,10a	65,69±2,22ab	1,00±0,07b

Quanto à forma, os frutos das variedades ‘Pêro de Coimbra’ e ‘Repinau’ são arredondados, sendo os restantes mais achatados (Tabela 7 e Figura 3).

3.1.2. Cor

A coloração das peras variou significativamente entre as variedades em observação. A variedade ‘Bela Feia’, assim como a ‘Carapinheira’ apresentaram valores de °Hue mais elevados ($>90^\circ$), o que indica tonalidades amarelas ligeiramente esverdeadas. Por oposição, a ‘Carapinheira Roxa’ é a pera com menor °Hue, indicando uma tonalidade amarela mais avermelhada (Figura 15).

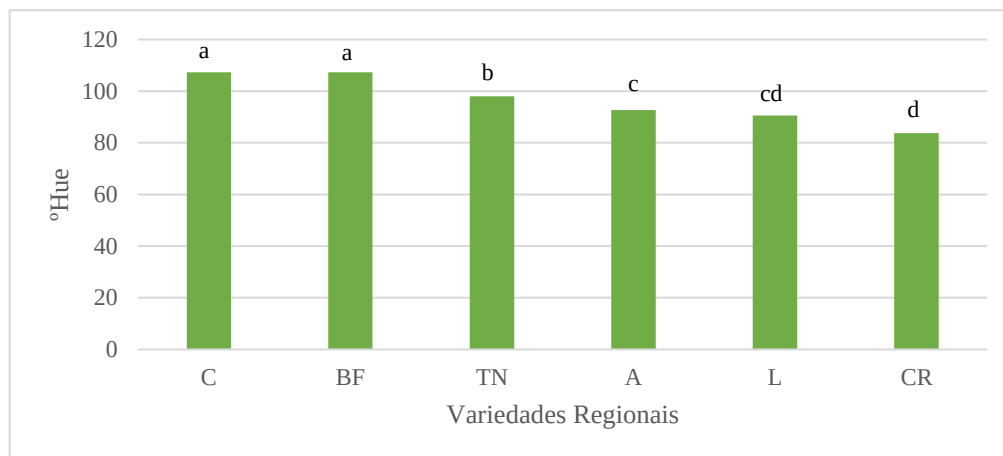


Figura 15 – Tonalidade (°Hue médio) das variedades regionais de pera. Letras diferentes indicam valores significativamente diferentes pelo teste Kruskal-Wallis, para $p < 0,05$ e $n=15$. Legenda: ‘Carapineira’(C), ‘Bela Feia’(BF), ‘Torres Novas’(TN), ‘Amorim’(A), ‘Lambe-os-dedos’(L), ‘Carapineira Roxa’(CR).

Tabela 8 – Valores médios dos parâmetros colorimétricos L^* , a^* , b^* e C^* , das variedades regionais de pera. Letras diferentes na mesma coluna indicam valores significativamente diferentes pelo teste Tukey para $p < 0,05$ e $n=20$.

Variedade	L^*	a^*	b^*	C^*
Carapineira	55,43±4,37cd	-12,16±4,86d	37,18±5,23cd	39,31±5,99cd
Carapineira Roxa	53,849±8,17d	2,09±12,44a	39,539±8,7bc	41,86±0,05bc
Torres Novas	62,96±7,32a	-7,26±12,21c	36,06±7,64d	39,01±5,98d
Bela Feia	52,852±3,60d	-11,42±3,32d	36,58±2,34cd	38,46±2,34d
Amorim	59,27±5,74b	-2,66±7,17b	44,59±5,27a	45,27±4,92a
Lambe-os-dedos	50,63±4,07bc	-0,76±2,84ab	42,57±1,96ab	42,91±1,92ab

As peras com maior luminosidade, ou seja, maiores valores de L^* , foram a variedade ‘Torres Novas’ e a ‘Amorim’, ao contrário da variedade ‘Lambe-os-dedos’ e ‘Bela Feia’ que apresentam valores mais baixos (Tabela 8). No que diz respeito aos valores de C^* , a variedade ‘Bela Feia’ tem menor saturação e intensidade de cor da epiderme, em oposição à ‘Amorim’ que apresenta maior saturação, pois apresenta maiores valores de C^* , como pode observar-se na Tabela 8. Ainda é possível comparar os valores das coordenadas colorimétricas a^* e b^* , onde a ‘Carapineira Roxa’ apresenta tons amarelo-avermelhados, enquanto que as restantes variedades exibem tons amarelo-esverdeados (Tabela 8 e Figura 4). No caso das variedades ‘Torres Novas’ e

Carapinheira’, estas podem apresentar uma tonalidade ligeiramente avermelhada na face exposta ao sol, devido a escaldão solar (Figura 4).

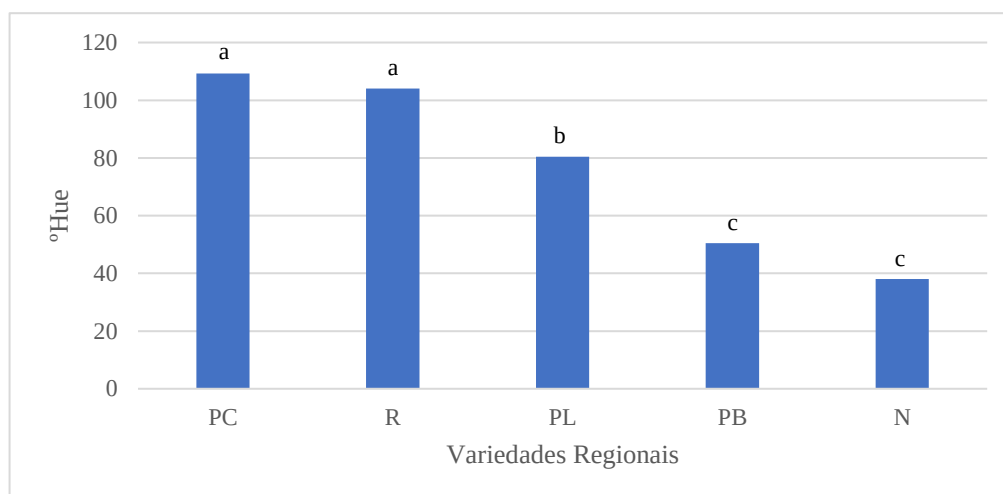


Figura 16 – Tonalidade (°Hue médio) das variedades regionais de maçã. Letras diferentes indicam valores significativamente diferentes pelo teste Kruskal-Wallis, para $p < 0,05$ e $n=15$. Legenda: ‘Pêro Coimbra’(PC), ‘Repinau’(R), ‘Pardo Lindo’ (PL), ‘Pêro de Borbela’ (PB), ‘Noiva’ (N).

Relativamente à coloração das maçãs em estudo, observam-se diferenças significativas entre as variedades (Figura 16). As variedades com frutos mais avermelhados são a ‘Noiva’ e o ‘Pêro de Borbela’, uma vez que são as que apresentam valores mais baixos para o parâmetro de °Hue. Por oposição, as variedades ‘Pêro Coimbra’ e ‘Repinau’ são as que apresentaram valores mais elevados de °Hue ($>90^\circ$), indicando tonalidades amarelo-esverdeadas (Figuras 3 e 16).

Tabela 9 - Valores médios dos parâmetros colorimétricos L^* , a^* , b^* e C^* , das variedades regionais de maçã. Letras diferentes na mesma coluna indicam valores significativamente diferentes pelo teste Tukey para $p < 0,05$ e $n=15$.

Variedade	L^*	a^*	b^*	C^*
Noiva	39,09±4,57d	29,42±5,31a	22,84±4,62d	38,48±1,89d
Pardo Lindo	55,07±3,38b	8,01±4,85b	47,25±2,63b	48,41±2,58c
Pêro de Borbela	50,10±5,34c	23,64±7,49a	27,28±4,50c	39,01±2,34d
Pêro Coimbra	66,79±1,68a	-18,51±3,52c	51,91±1,98a	55,47±2,25a
Repinau	66,39±2,28a	-13,54±8,42c	49,44±4,14ab	52,38±3,90b

A variedade com maior luminosidade corresponde à maçã ‘Pêro Coimbra’, sendo a ‘Noiva’ a variedade menos luminosa, por apresentar um L^* mais baixo (Tabela 9). A variedade ‘Pêro Coimbra’ tem uma coloração mais saturada quando comparada com as restantes variedades, indicado pelos valores mais elevados de C^* , ao contrário da ‘Noiva’ que tem valores mais baixos e consequentemente menor intensidade da coloração da

epiderme. No que diz respeito aos valores de a^* e b^* , as variedades ‘Pêro Coimbra’ e ‘Repinau’ apresentam tons amarelo-esverdeados, enquanto que as restantes variedades exibem tons vermelho-amarelados (Tabela 9 e Figura 4).

3.1.3. Firmeza

As peras das variedades regionais diferem significativamente relativamente à firmeza média, sendo a variedade ‘Lambe-os-dedos’ a que apresenta uma maior firmeza (Figura 17).

Pelo contrário, a ‘Carapinheira Roxa’ tem a menor firmeza média, à semelhança da pera ‘Torres Novas’. Sendo estas duas variedades as que apresentam menor firmeza, poderão apresentar uma vida útil mais curta, uma vez que estão mais suscetíveis a danos físicos, por exemplo, durante o transporte ou armazenamento, e consequentemente à colonização por agentes patogénicos (82).

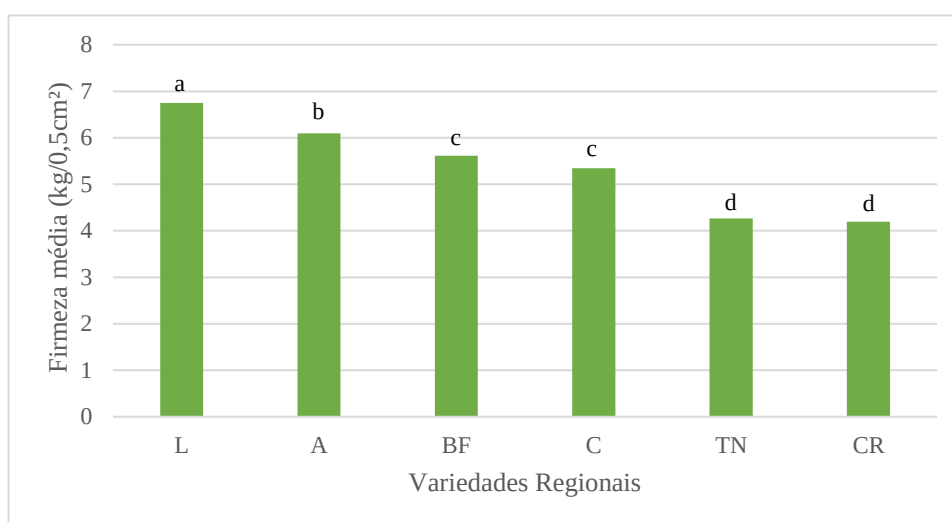


Figura 17 - Firmeza média das variedades regionais das peras. Letras diferentes indicam valores significativamente diferentes pelo teste Kruskal-Wallis, para $p < 0,05$ e $n=20$. Legenda: ‘Carapinheira’(C), ‘Bela Feia’(BF), ‘Torres Novas’(TN), ‘Amorim’(A), ‘Lambe-os-dedos’(L), ‘Carapinheira Roxa’(CR).

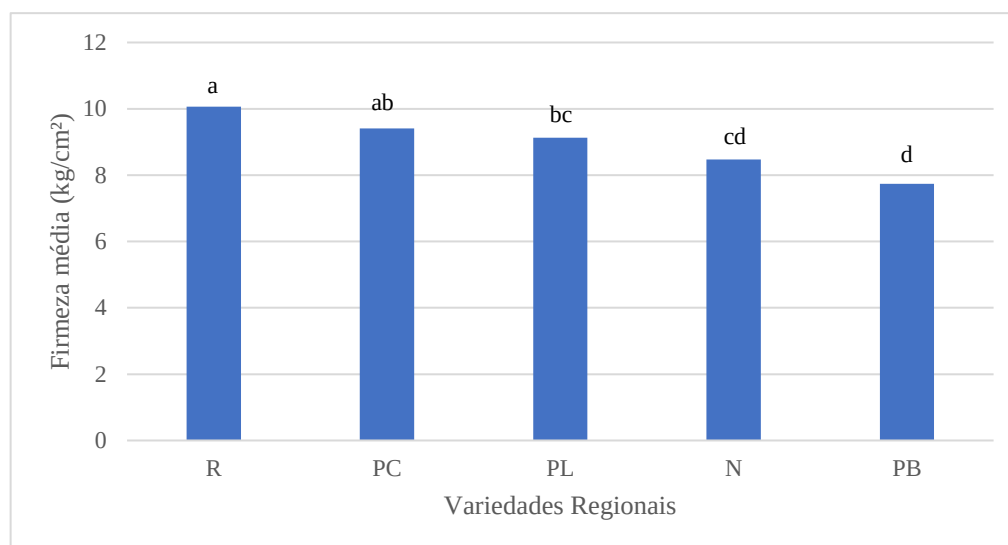


Figura 18 - Firmeza média das variedades regionais de maçã. Letras diferentes indicam valores significativamente diferentes pelo teste Kruskal-Wallis, para $p < 0,05$ e $n=15$. Legenda: ‘Pêro Coimbra’(PC), ‘Repinau’(R), ‘Pardo Lindo’ (PL), ‘Pêro de Borbela’ (PB), ‘Noiva’ (N).

Nas maçãs, a firmeza média varia significativamente, sendo a variedade ‘Repinau’ a que apresenta maior firmeza (Figura 18). A maçã ‘Pêro de Borbela’ foi a variedade que apresentou menor firmeza, seguida pela ‘Noiva’. No seguimento do referido anteriormente para as peras, é espectável que estas últimas variedades apresentem um tempo de vida útil mais curto que as restantes, cuja firmeza é superior.

3.1.4. Acidez total

Em geral, as diferentes variedades de pera mostram valores de acidez titulável significativamente diferentes, com exceção das variedades ‘Carapinheira’ e ‘Carapinheira Roxa’ que são muito semelhantes (Figura 19). As peras ‘Lambe-os-dedos’ são as que possuem maior acidez total, comparativamente com as restantes. Em princípio, esta variedade será menos suscetível à colonização por patógenos, não estando numa fase muito avançada da sua maturação. A relação entre valores de acidez mais elevados e menor suscetibilidade ao ataque por patógenos, principalmente fungos, já foi amplamente descrita por outros autores (83).

Por sua vez, a ‘Torres Novas’ é a variedade que possui menor acidez (aproximadamente menos 70% de acidez titulável que a variedade ‘Lambe-os-dedos’). Tendo em conta que esta mesma variedade é a que possuía a menor firmeza, poderá estar

numa fase de maturação mais avançada e poderá já haver uma diminuição da qualidade organolética da mesma.

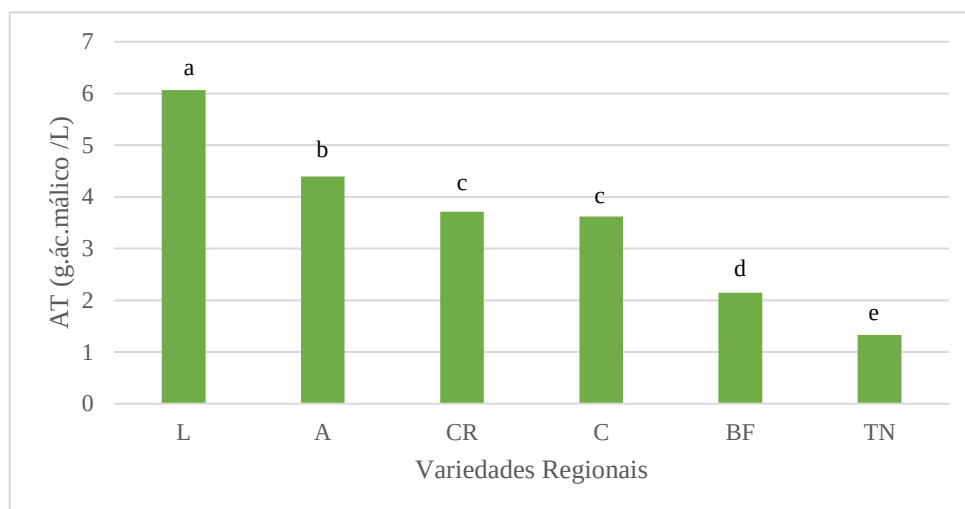


Figura 19 - Acidez total média das variedades regionais das peras. Letras diferentes indicam valores significativamente diferentes pelo teste Tukey para $p < 0,05$ e $n=3$. Legenda: ‘Carapineira’(C), ‘Bela Feia’(BF), ‘Torres Novas’(TN), ‘Amorim’(A), ‘Lambe-os-dedos’(L), ‘Carapineira Roxa’(CR).

Relativamente à acidez total nas maçãs, os valores foram consideravelmente mais baixos que os das peras (<3 g.ác. málico/L) e não se verificaram muitas diferenças nos valores entre as diferentes variedades, ao contrário do observado nas peras. A ‘Noiva’ é a variedade que possui maior acidez total, cerca de 2,85 g de ácido málico/L, sendo assim a maçã mais ácida (Figura 20).

Por sua vez, a ‘Pêro Coimbra’ é a variedade com menor quantidade de ácido málico, podendo encontrar-se num estado de maturação mais avançado.

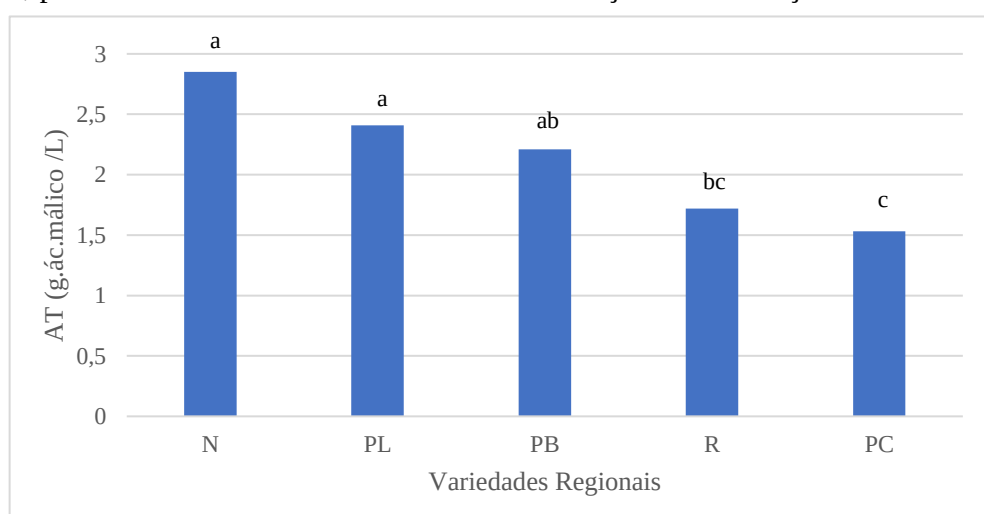


Figura 20 - Acidez total média das variedades regionais de maçã. Letras diferentes indicam valores significativamente diferentes pelo teste Tukey para $p < 0,05$ e $n=3$. Legenda: ‘Pêro Coimbra’(PC), ‘Repinau’(R), ‘Pardo Lindo’ (PL), ‘Pêro de Borbela’ (PB), ‘Noiva’ (N).

Os resultados apresentados apresentam diferenças significativas (Figura 20).

3.1.5. Teor de sólidos solúveis

No que diz respeito ao teor de sólidos solúveis totais, todas as variedades de pera mostraram valores muito elevados, superiores a 14,5 °Brix. A variedade regional com maior teor foi a ‘Carapineira Roxa’, com 17 °Brix, já as variedades ‘Torres Novas’ e ‘Carapineira’ apresentaram menor teor de sólidos solúveis, como pode apreciar-se na Figura 21. Desta forma, percebe-se que a ‘Carapineira Roxa’ é a pera mais doce e que a ‘Carapineira’ a que apresenta menor doçura, embora todas apresentem uma doçura consideravelmente elevada, conforme já foi referido.

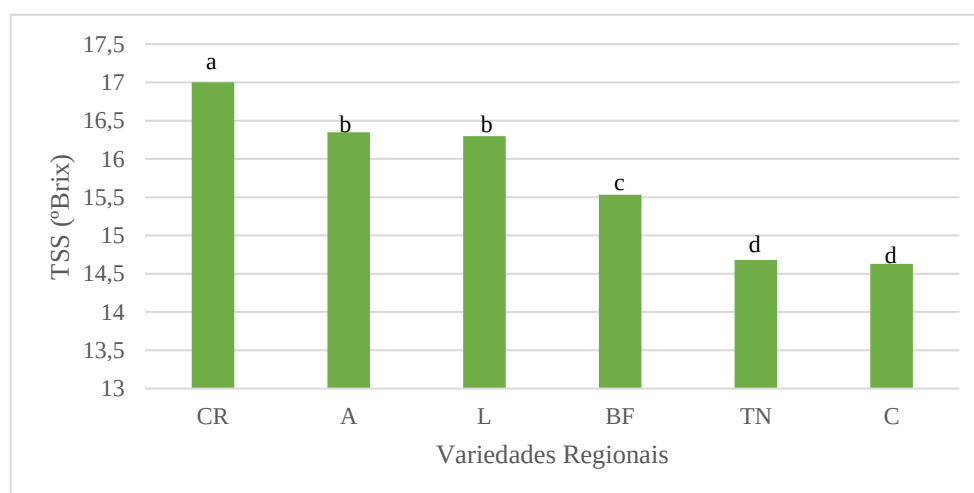


Figura 21 – Teor médio de sólidos solúveis das variedades regionais das peras. Letras diferentes indicam valores significativamente diferentes pelo teste Kruskal-Wallis, para $p < 0,05$ e $n=20$. Legenda: ‘Carapineira’(C), ‘Bela Feia’(BF), ‘Torres Novas’(TN), ‘Amorim’(A), ‘Lambe-os-dedos’(L), ‘Carapineira Roxa’(CR).

Quanto às maçãs, a variedade com maior teor de sólidos solúveis foi a ‘Pardo Lindo’, com 17,2 °Brix e a variedade com menor teor foi a ‘Pêro Coimbra’, com 13,8 °Brix e logo a seguir a ‘Pêro de Borbela’, com 14,1 °Brix (Figura 22).

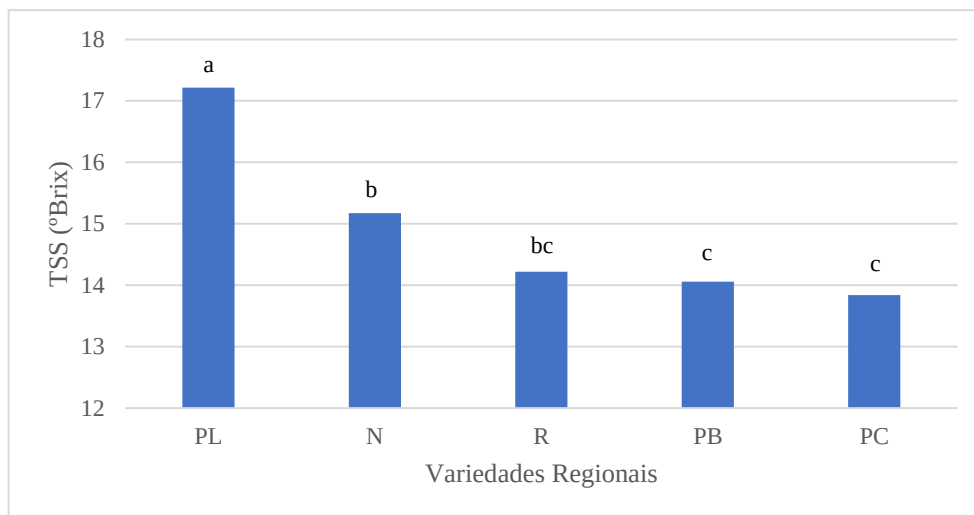


Figura 22 – Teor médio de sólidos solúveis das variedades regionais de maçã. Letras diferentes indicam valores significativamente diferentes pelo teste Tukey, para $p < 0,05$ e $n=15$. Legenda: ‘Pêro Coimbra’(PC), ‘Repinau’(R), ‘Pardo Lindo’ (PL), ‘Pêro de Borbela’ (PB), ‘Noiva’ (N).

3.1.6. Índice de qualidade

Através da equação do índice de Thiault (Eq. I), obtiveram-se os resultados apresentados nas Figuras 23 e 24, de pera e maçã, respetivamente.

Nas peras, a variedade ‘Lambe-os-dedos’ apresenta o maior índice de qualidade ($IQ=223,66$), bastante superior ao valor recomendado de 180, sendo, portanto, a variedade que apresenta melhor qualidade. Por oposição, a variedade ‘Torres Novas’ é a que tem um índice menor ($IQ=160,07$) e é inferior ao recomendado de 170. Assim, esta pera não apresenta o valor mínimo aceitável de qualidade à colheita. Este baixo índice de qualidade deve-se principalmente ao facto de esta variedade apresentar baixos valores de acidez total (Figura 23).

A variedade ‘Bela Feia’ apresenta uma qualidade aceitável ($180 > IQ > 170$), enquanto que a ‘Lambe-os-dedos’, a ‘Amorim’, a ‘Carapinheira Roxa’ e a ‘Carapinheira’ apresentam uma qualidade de excelência ($IQ > 180$).

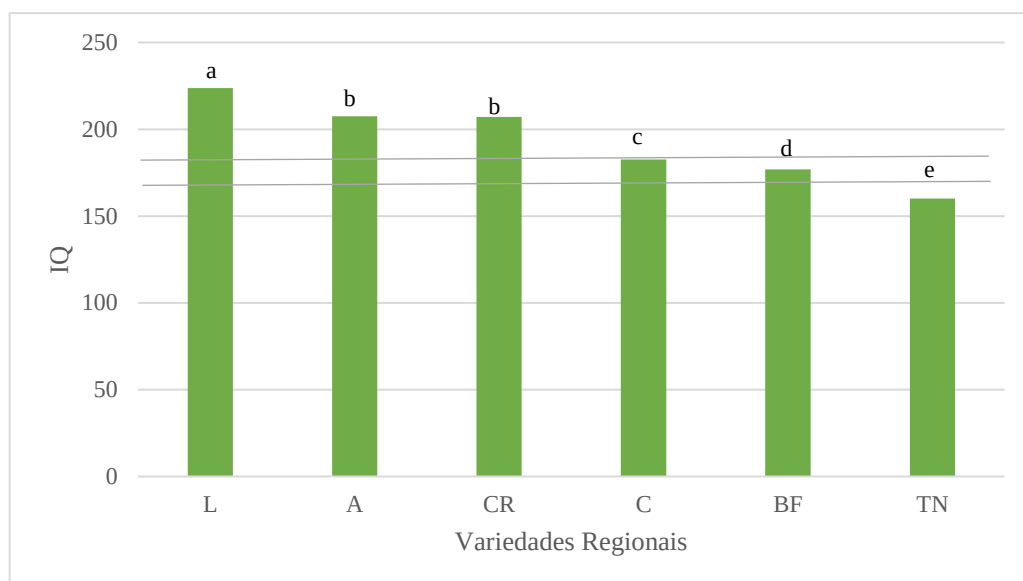


Figura 23 – Índice de qualidade médio das variedades regionais de pera. Letras diferentes indicam valores significativamente diferentes pelo teste Tukey, para $p < 0,05$ e $n=3$. Legenda: ‘Carapinheira’(C), ‘Bela Feia’(BF), ‘Torres Novas’(TN), ‘Amorim’(A), ‘Lambe-os-dedos’(L), ‘Carapinheira Roxa’(CR).

No que diz respeito às maçãs, a ‘Pardo Lindo’ é a variedade com maior qualidade, comparativamente às restantes. A ‘Noiva’ também apresenta uma qualidade de excelência, contudo, inferior ao ‘Pardo Lindo’. Todas as restantes variedades não exibem um valor mínimo aceitável de qualidade na época de colheita, ou seja, os seus IQ são inferiores a 170.

De uma forma geral, os valores de acidez e sólidos solúveis totais nas peras são muito superiores aos apresentados nas maçãs, o que faz com que o valor do índice seja maior. Um exemplo é a ‘Pêro Coimbra’ que apresenta baixa acidez e baixa doçura, resultando num índice de qualidade baixo.

Assim, as variedades ‘Pêro de Borbela’, ‘Repinau’ e ‘Pêro Coimbra’ não apresentam perceção sensorial de qualidade, uma vez que a relação TSS e AT é baixa, devido principalmente à baixa acidez (Figura 24).

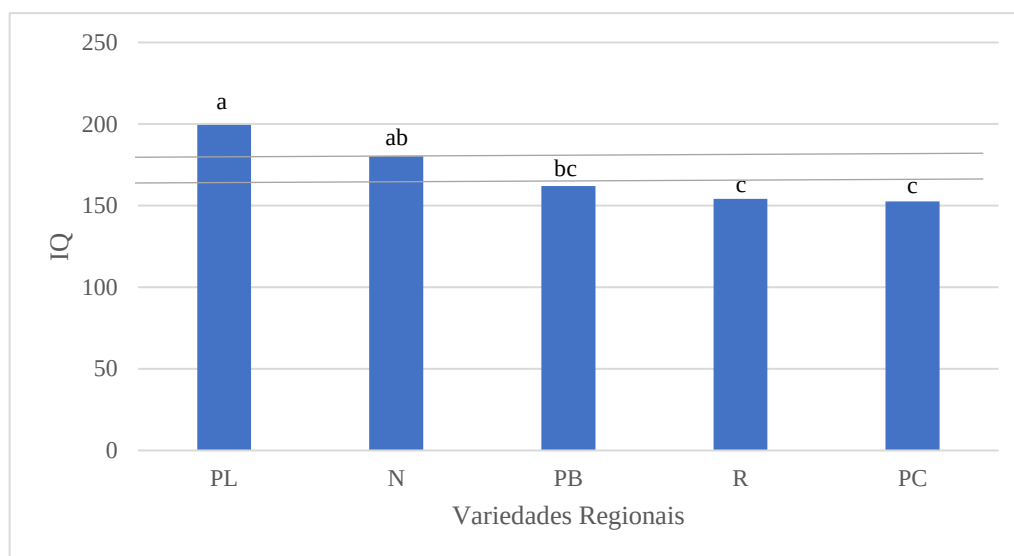


Figura 24 - Índice de qualidade médio das variedades regionais de maçã. Letras diferentes indicam valores significativamente diferentes pelo teste Tukey, para $p < 0,05$ e $n=3$. Legenda: ‘Pêro Coimbra’(PC), ‘Repinau’(R), ‘Pardo Lindo’ (PL), ‘Pêro de Borbela’ (PB), ‘Noiva’ (N).

3.1.7. Teor de matéria seca

A matéria seca nas variedades de pera varia significativamente, sendo que a variedade ‘Lambe-os-dedos’ possui maior % de matéria seca após 48h pesagem 70°C, seguida das variedades ‘Amorim’, ‘Carapinheira Roxa’ e ‘Bela Feia’ (Figura 25). A variedade com menor valor de matéria seca é a ‘Torres Novas’.

Neste caso, a variedade com maior quantidade de matéria seca não é a que tem maior teor de sólidos solúveis totais. A matéria seca corresponde ao conjunto dos açúcares, amido, proteínas, minerais, entre outros, sendo que embora possa existir uma relação de proporcionalidade, esta nem sempre se verifica.

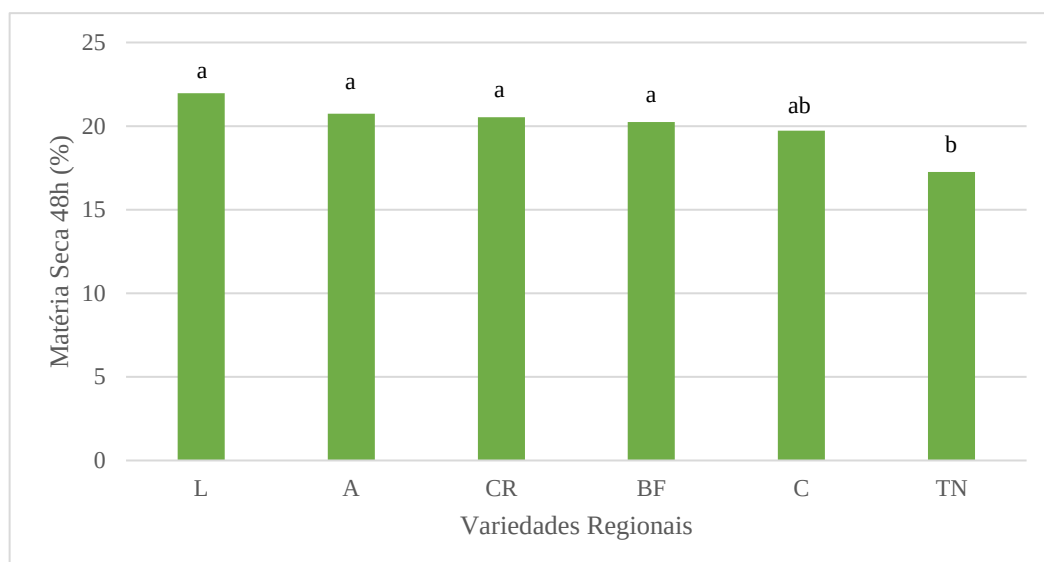


Figura 25 – Matéria seca média das variedades regionais de pera. Letras diferentes indicam valores significativamente diferentes pelo teste Tukey, para $p < 0,05$ e $n=3$. Legenda: ‘Carapineira’(C), ‘Bela Feia’(BF), ‘Torres Novas’(TN), ‘Amorim’(A), ‘Lambe-os-dedos’(L), ‘Carapineira Roxa’(CR).

Nas maçãs também foram observadas diferenças significativas, sendo que a variedade ‘Pêro de Borbela’ é a que possui menor percentagem de matéria seca e a ‘Pardo Lindo’ a maior quantidade (Figura 26).

No caso da ‘Pardo Lindo’ é a variedade com maior teor de sólidos solúveis e maior quantidade de matéria seca, demonstrando a relação existente entre os dois parâmetros.

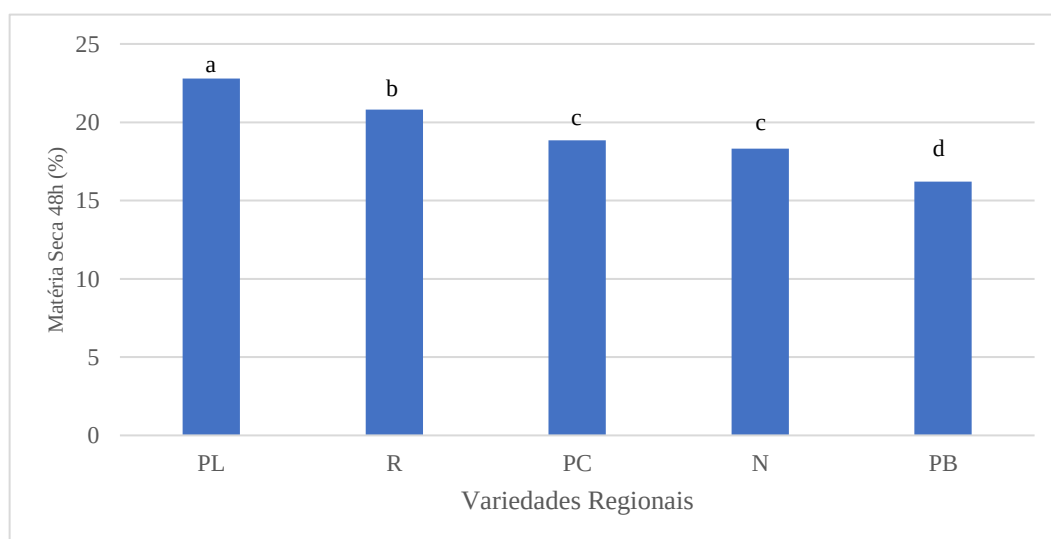


Figura 26 – Matéria seca média das variedades regionais de maçã. Letras diferentes indicam valores significativamente diferentes pelo teste Tukey, para $p < 0,05$ e $n=3$. Legenda: ‘Pêro Coimbra’(PC), ‘Repinau’(R), ‘Pardo Lindo’ (PL), ‘Pêro de Borbela’ (PB), ‘Noiva’ (N).

3.2. Análise de açúcares por HPLC

Nesta parte do trabalho pretendeu-se implementar um protocolo de extração e análise de açúcares nas polpas das peras e das maçãs regionais. O grande desafio consistiu na utilização de um sistema de HPLC equipado unicamente com um detetor PDA.

A generalidade da bibliografia refere que a deteção de açúcares através cromatografia líquida de alta eficiência com um detetor PDA não é possível, porque os açúcares não absorvem radiação UV ou visível (84). Contudo, um artigo mais recente demonstra a semelhança dos resultados na quantificação de açúcares usando HPLC-IR e HPLC-PDA (79).

Assim, numa primeira abordagem decidiu-se avançar com a determinação dos açúcares com uma coluna específica para a separação de mono e dissacarídeos e utilizando um detetor PDA. Após a injeção de padrões de sacarose, glucose, frutose e sorbitol, em separado e em conjunto, percebeu-se que, conforme descrito na literatura mais recente, era possível separar e identificar o tempo de retenção dos diferentes açúcares. A injeção dos padrões em diferentes concentrações também permitiu achar a equação da reta que relaciona a concentração dos açúcares com a área dos picos. Esta curva de calibração permitiria posteriormente a quantificação dos açúcares nas diferentes amostras.

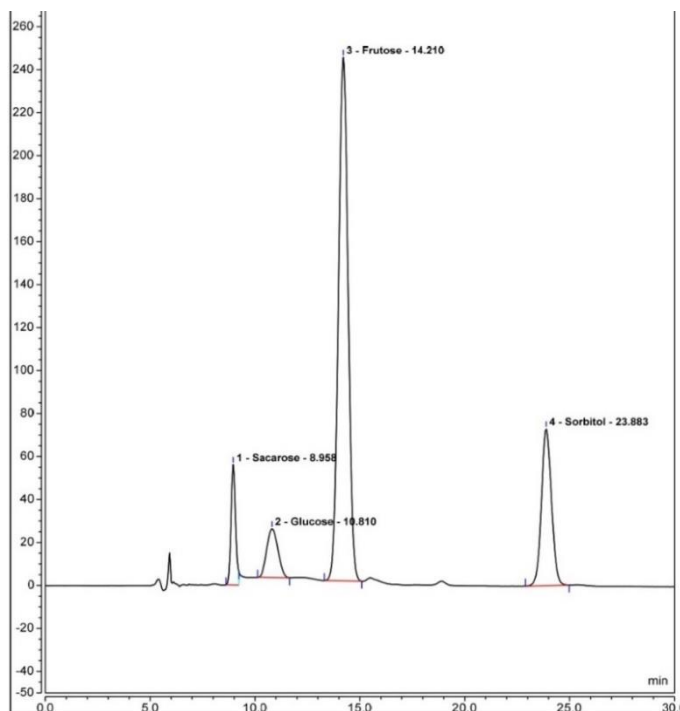


Figura 27 - Cromatograma exemplificativo dos padrões de sacarose, glucose, frutose e sorbitol, usando um detetor de arranjo de fotodíodos, com volume de injeção de 10 µl, temperatura do forno a 60°C e fluxo 0,6 ml/min.

A Figura 27 corresponde a um cromatograma exemplificativo, obtido a partir da injeção de uma solução padrão com os quatro açúcares, recorrendo ao detetor PDA. Como se pode verificar neste cromatograma, os picos encontram-se bem isolados e passíveis de se integrar e determinar a sua área.

Para a quantificação dos açúcares nas amostras de fruta, prepararam-se três sumos de cada variedade, conforme foi referido na secção (nº 2.1.) dos Materiais e Métodos. Estes sumos correspondem a repetições verdadeiras, dos quais só foram analisados 2 sumos, tendo sido o 3º reservado para possível necessidade de análises adicionais. De cada sumo foram realizadas 2 injeções, ou seja, um total de 4 injeções por amostra.

Após as primeiras injeções de amostras, rapidamente se percebeu que teriam de ser realizadas alterações no processo de extração ou na metodologia de análise usada. Como é possível observar na Figura 28, o pico da sacarose encontra-se demasiado próximo ou em sobreposição com um pico maior, o que impede de quantificar corretamente a concentração de sacarose. Embora o perfil cromatográfico seja diferente consoante a variedade regional em estudo, em termos do número e tamanho dos picos que aparecem no início do cromatograma, em todos os casos mantém-se a dificuldade para integrar o pico da sacarose. Foi ainda feita uma tentativa de integração *valley-to-valley*, mas o erro introduzido poderia ser grande e estar a quantificar a sacarose por defeito.

Os picos que aparecem nos cromatogramas das amostras à esquerda da sacarose, e que não aparecem nos padrões, correspondem muito provavelmente a material de alto peso molecular procedentes dos tecidos das frutas e a açúcares neutros presentes em menores concentrações, que também são detetados pelo detetor PDA.

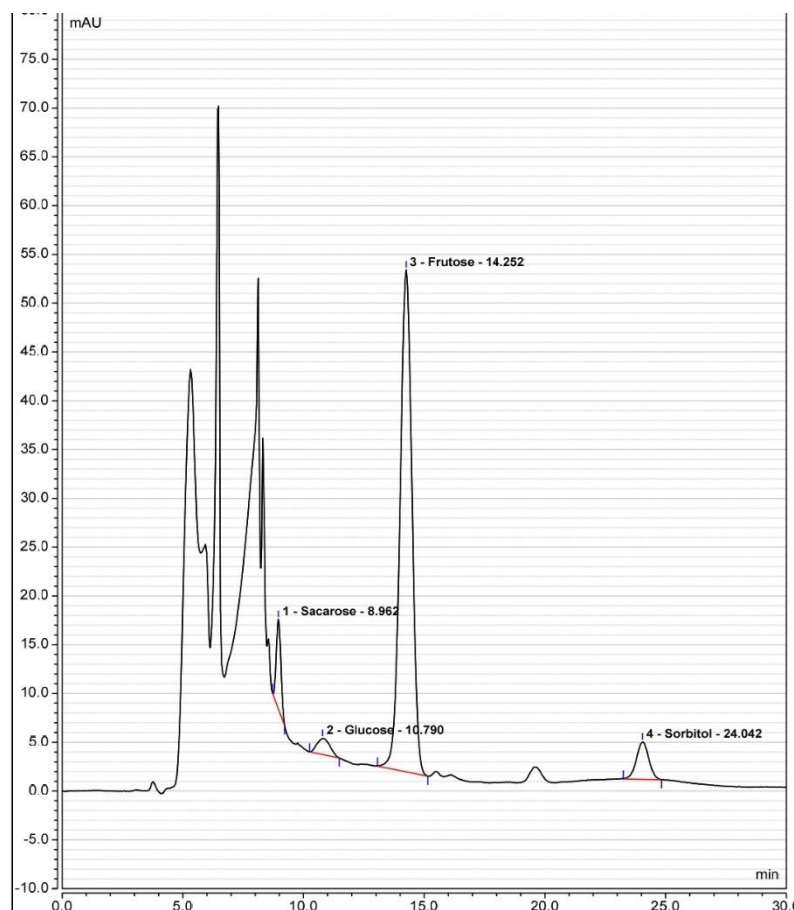


Figura 28 - Cromatograma típico das amostras de pera e maçã, recorrendo ao detetor PDA, temperatura do forno a 60°C e fluxo 0,6 ml/min.

Assim, com a finalidade de remover o material vegetal de elevado peso molecular presente nas amostras, os filtros foram trocados por outros com menor tamanho de poro (0,22 μm) e testados. Baixou-se também o fluxo da fase móvel e a temperatura da coluna, com o intuito de melhorar a separação do pico de sacarose. Também foi testado o efeito do congelamento sobre as amostras em estudo e diferentes métodos de extração. Nenhuma destas alterações permitiu melhorar satisfatoriamente a separação dos picos, tendo-se obtido as concentrações apresentadas nas seguintes tabelas (Tabelas 10 a 13).

Tabela 10 - Concentração dos açúcares solúveis nas diferentes variedades regionais de maçã, em mg/g de peso seco. Os dados são referentes às amostras de 2021, foram obtidos com um detetor PDA e volume de injeção 10 µl. Cada valor corresponde à média de 4 injeções. Letras diferentes na mesma linha indicam valores significativamente diferentes pelo teste Tukey para $p < 0,05$ e $n=4$.

	Noiva	Pardo Lindo	Pêro de Borbela	Pêro Coimbra	Repinau
Sacarose	249,0±22,6a	130,0±59,1b	249,0±4,7a	277,0±1,6a	156,0±1,7b
Glucose	61,8±39,0a	77,8±18,6a	72,7±43,9a	48,2±8,4a	69,8±10,0a
Frutose	284,0±3,6d	303,0±5,0c	383,0±11,6a	343,0±3,6b	369,0±6,9a
Sorbitol	47,3±8,9a	45,0±2,5a	67,4±24,6a	57,1±4,8a	60,0±1,53a

Tabela 11 - Concentração dos açúcares solúveis nas diferentes variedades regionais de pera, em mg/g de peso seco. Os dados são referentes às amostras de 2021, foram obtidos com um detetor PDA e volume de injeção 10 µl. Cada valor corresponde à média de 4 injeções. Letras diferentes na mesma linha indicam valores significativamente diferentes pelo teste Tukey para $p < 0,05$ e $n=4$.

	Carapinhiera	Carapinhiera Roxa	Torres Novas	Bela Feia	Amorim	Lambe-os-dedos
Sacarose	144,0±8,81c	190,0±2,86a	184,6±9,5ab	206,0±1,53a	162,0±6,75bc	159,0±0,9c
Glucose	144,0±17,7abc	94,1±13,5bcd	129,0±0,0ab	142,0±25,9a	67,8±8,0d	74,2±26,3cd
Frutose	532,0±21,9a	403,0±4,1b	350,0±12,4c	368,0±12,9c	275,0±3,9d	280,0±8,9d
Sorbitol	107,0±14,6c	193,0±10,4a	146,0±9,29b	204,0±4,5a	188,0±1,7a	188,0±14,6a

Tabela 12 - Concentração dos açúcares solúveis nas diferentes variedades regionais de maçã, em mg/g de peso seco. Os dados são referentes às amostras de 2022, foram obtidos com um detetor PDA e volume de injeção 10 µl. Cada valor corresponde à média de 4 injeções. Letras diferentes na mesma linha indicam valores significativamente diferentes pelo teste Tukey para $p < 0,05$ e $n=4$.

	Noiva	Pardo Lindo	Pêro de Borbela	Pêro Coimbra	Repinau
Sacarose	199,0±18,0a	188,0±12,9a	185,0±69,0a	248,0±26,2a	212,0±1,3a
Glucose	62,5±13,8bc	150,0±19,5a	78,5±20,8b	37,8±9,4c	47,9±10,9bc
Frutose	346,0±4,5b	305,0±7,9d	444,0±5,2a	317,0±2,9c	321,0±3,5c
Sorbitol	32,9±1,71ab	44,3±1,9a	41,9±3,1ab	34,4±12,2ab	30,3±2,3b

Tabela 13 - Concentração dos açúcares solúveis nas diferentes variedades regionais de pera, em mg/g de peso seco. Os dados são referentes às amostras de 2022, foram obtidos com um detetor PDA e volume de injeção 10 µl. Cada valor corresponde à média de 4 injeções. Letras diferentes na mesma linha indicam valores significativamente diferentes pelo teste Tukey para $p < 0,05$ e $n=4$.

	Carapinhiera	Carapinhiera Roxa	Torres Novas	Bela Feia	Amorim	Lambe-os-dedos
Sacarose	76,9±53,1c	342,0±1,0b	201,0±77,6bc	592,9±114,0a	232,0±25,9bc	121,5±1,2c
Glucose	56,6±4,3bc	106,0±10,3ab	109,0±47,0a	92,6±10,0abc	50,2±6,0c	63,3±21,6abc
Frutose	380,0±7,5a	382,0±34,7a	290,0±4,8b	284,0±1,2b	276,0±9,8b	397,0±17,8a
Sorbitol	212,0±18,2c	195,0±13,7c	138,0±10,0d	248,0±1,7b	207,0±2,6c	274,0±8,4a

Importa referir que é comum obter desvios-padrão elevados neste tipo de análises com frutas, já que cada sumo é uma repetição verdadeira, ou seja, cada sumo é elaborado a partir de um lote de 5 frutos diferentes, o que pode implicar uma grande heterogeneidade. A quantidade de açúcar presente em cada um dos frutos varia e consequentemente a quantidade de açúcar em cada um dos sumos. Assim, para a mesma variedade e para o mesmo ano, em sumos diferentes é normal existirem diferenças no que respeita à concentração de açúcares, gerando desvios-padrão elevados.

Como é possível observar nas tabelas 10,11,12 e 13, alguns desvios-padrão são muito grandes, o que implica que além da heterogeneidade mencionada anteriormente, existe provavelmente um grande erro introduzido na integração dos picos, como consequência das condições dos cromatogramas. Em geral, a sacarose e a glucose foram os compostos mais afetados, principalmente a sacarose.

Com o objetivo de ultrapassar este problema, testou-se uma nova abordagem, consistente na implementação de um detetor de índice de refração (IR), facultado temporariamente por outra instituição de ensino, o qual, sendo mais adequado para a deteção de açúcares, iria permitir comparar os resultados obtidos com o PDA e, se possível, introduzir melhorias na metodologia utilizada. Este detetor IR foi colocado no circuito do sistema cromatográfico, em série, logo a seguir ao detetor PDA.

Recomeçou-se tudo do início, nomeadamente a injeção dos diferentes padrões, primeiro em separado e depois juntos, de forma a perceber se os picos estariam bem isolados, nas mesmas condições usadas para o PDA. Contudo, o sinal emitido pelo detetor IR era muito baixo e foi necessário aumentar o volume de injeção de forma a reduzir o ruído e a aumentar o sinal. Após vários testes decidiu-se utilizar um volume de injeção de 40 µl.

Na Figura 29, é possível observar um cromatograma típico da injeção de uma solução com todos os padrões, numa concentração de 50 mg/mL, recorrendo ao detetor IR (A) e ao detetor PDA (B).

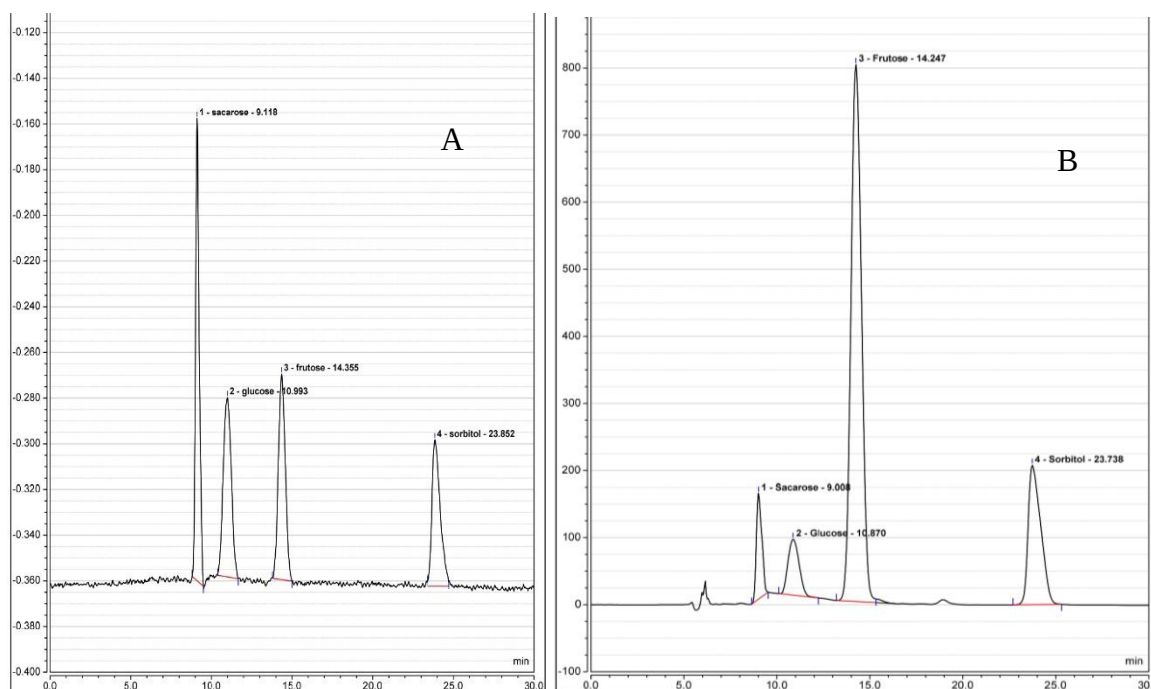


Figura 29 - Cromatograma exemplificativo dos padrões de sacarose, glucose, frutose e sorbitol, usando um detetor IR (A) e um detetor PDA (B), com volume de injeção 40 µl, temperatura do forno a 60°C e fluxo 0,6 ml/min.

Por comparação dos cromatogramas apresentados, percebe-se que o sinal da sacarose e da glucose recorrendo ao detetor IR é maior do que usando o detetor PDA. Por oposição, a frutose tem um pico maior quando é usado um detetor de PDA e o sorbitol tem um sinal semelhante, usando ambos os detetores.

Na Figura 30, apresenta-se um cromatograma típico, tanto de pera como de maçã, usando um detetor de índice de refração. Neste caso, o cromatograma é referente à variedade ‘Pêro de Borbela’, sumo 2, do ano 2021. Já na Figura 31, observamos um cromatograma obtido com um detetor de arranjo de fotodíodos, da variedade ‘Pêro de Borbela’, sumo 1, do ano 2021.

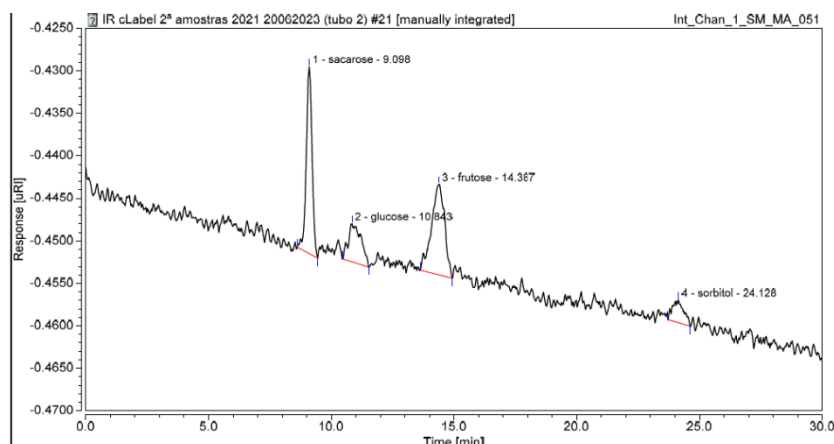


Figura 30 - Cromatograma típico das amostras de pera e maçã, recorrendo ao detetor IR, temperatura do forno a 60°C e fluxo 0,6 ml/min.

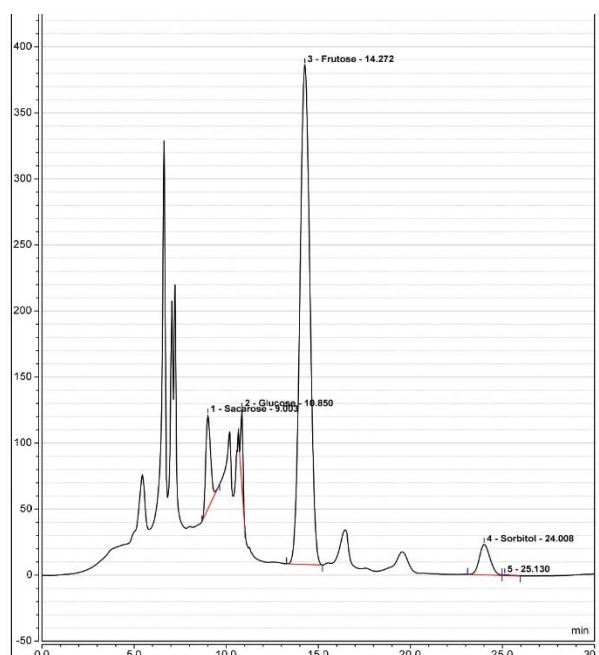


Figura 31 - Cromatograma típico das amostras de pera e maçã, recorrendo ao detetor PDA, temperatura do forno a 60°C e fluxo 0,6 ml/min.

No cromatograma do detetor IR, não foram detetados interferentes, ou seja, só aparecem os picos dos açúcares de interesse. Contudo, a linha base apresenta algum ruído e instabilidade. Esta inconstância poderá estar relacionada com o detetor, já que o mesmo era bastante antigo e não tinha controlador ou estabilizador automático de temperatura, para além de ser afetado com a temperatura exterior, que em algumas ocasiões ultrapassava os 30°C. Na tentativa de baixar a temperatura da sala, ligou-se o ar condicionado, mas o fluxo de ar frio provocava ainda mais instabilidade da linha base do detetor.

No caso do PDA, não houve um melhoramento considerável dos picos de sacarose e glucose com o aumento do volume de injeção, sendo que ainda piorou ligeiramente o pico da glucose.

Nas tabelas seguintes, apresentam-se os valores das concentrações de sacarose, glucose, frutose e sorbitol das variedades regionais, dos anos 2021 e 2022. As tabelas 14, 15, 16 e 17 foram as concentrações obtidas através do detetor PDA, enquanto que as 18, 19, 20 e 21 foram obtidas com o detetor IR.

Algumas concentrações de sacarose e glucose têm desvios padrões muito elevados, principalmente no detetor PDA, podendo indicar novamente que não estão a ser bem quantificados.

Quanto às diferenças observadas para a mesma variedade entre os dois anos, isto pode dever-se ao facto que a quantidade de açúcar na fruta, depender de vários fatores para além do cultivar ou variedade, nomeadamente do estado de maturação, das condições edafo-climáticas, das práticas culturas realizadas no pomar, assim como também do tipo de stress a que é submetido (52).

As Figuras 32 e 33 representam a comparação gráfica das concentrações de cada um dos açúcares usando o detetor PDA e IR, respetivamente. Em todas as variedades, quer no PDA, quer no IR, a frutose é o açúcar que se encontra em maior concentração.

Nas maçãs, a sacarose é o segundo açúcar em maior concentração e o sorbitol em menor concentração em todos, à exceção do ‘Pêro Coimbra’. Assim, de uma forma geral as concentrações dos açúcares parecem seguir um padrão, em que a frutose se encontra em maior quantidade, seguido da sacarose, glucose e por fim o sorbitol (Figura 33).

As peras, de uma forma geral, apresentam maior concentração de sorbitol que as maçãs. Contudo, não apresentam um modelo definido, variando muito dependendo da variedade em estudo, mas a sacarose parece ser o açúcar presente em menor concentração em todos eles (segundo os dados obtidos com o detetor IR). A sacarose é o açúcar que exhibe maior oscilação de valores, atendendo ao detetor usado (Figura 33).

Tabela 14 - Concentração dos açúcares solúveis nas diferentes variedades regionais, em mg/g de peso seco. Os dados são referentes às amostras de 2021, foram obtidos com um detetor PDA e volume de injeção 40 µl. Cada valor corresponde à média de 4 injeções. Letras diferentes na mesma linha indicam valores significativamente diferentes pelo teste Tukey para $p < 0,05$ e $n=4$.

	Noiva	Pardo Lindo	Pêro de Borbela	Pêro Coimbra	Repinau
Sacarose	224,0±26,4ab	203,0±16,3b	214,0±17,8ab	263,0±0,6a	185,0±0,1b
Glucose	8,8±4,4c	8,5±2,6c	92,3±0,4a	59,2±34,0ab	26,4±16,2bc
Frutose	272,0±9,3b	303,0±6,3b	369,0±22,0a	330,0±1,9ab	326,0±59,9ab
Sorbitol	36,6±17,3a	40,9±6,3a	58,8±15,5a	48,3±13,4a	44,9±14,7a

Tabela 15 - Concentração dos açúcares solúveis nas diferentes variedades regionais, em mg/g de peso seco. Os dados são referentes às amostras de 2021, foram obtidos com um detetor PDA e volume de injeção 40 µl. Cada valor corresponde à média de 4 injeções. Letras diferentes na mesma linha indicam valores significativamente diferentes pelo teste Tukey para $p < 0,05$ e $n=4$.

	Carapinheira	Carapinheira Roxa	Torres Novas	Bela Feia	Amorim	Lambe-os-dedos
Sacarose	131,0±58,1bc	152,0±36,6ab	229,0±53,1a	65,3±20,5c	184,0±19,3ab	192,0±20,8ab
Glucose	136,9±1,5a	137,0±1,5a	78,9±0,5c	136,1±1,4a	8,5±4,5d	108,7±0,16b
Frutose	496,0±14,5a	360,0±29,5b	338,0±4,5b	351,0±3,2b	253,0±16,2c	261,0±4,5c
Sorbitol	91,1±7,6c	177,0±5,2a	132,0±16,0b	188,0±8,7a	181,0±1,5a	172,0±2,5a

Tabela 16 - Concentração dos açúcares solúveis nas diferentes variedades regionais, em mg/g de peso seco. Os dados são referentes às amostras de 2022, foram obtidos com um detetor PDA e volume de injeção 40 µl. Cada valor corresponde à média de 4 injeções. Letras diferentes na mesma linha indicam valores significativamente diferentes pelo teste Tukey para $p < 0,05$ e $n=4$.

	Noiva	Pardo Lindo	Pêro de Borbela	Pêro Coimbra	Repinau
Sacarose	210,0±27,6b	116,0±3,1c	130,0±37,9c	567,9±4,9a	13,8±1,1d
Glucose	22,7±66,7bc	89,2±2,2a	15,5±11,0c	15,7±4,2c	53,8±30,3b
Frutose	318,0±36,1b	294,0±9,01b	391,0±42,1a	309,0±2,5b	304,0±19,2b
Sorbitol	17,1±2,4b	36,9±3,8a	21,1±0,2ab	23,1±15,5ab	19,1±6,25b

Tabela 17 - Concentração dos açúcares solúveis nas diferentes variedades regionais, em mg/g de peso seco. Os dados são referentes às amostras de 2022, foram obtidos com um detetor PDA e volume de injeção 40 µl. Cada valor corresponde à média de 4 injeções. Letras diferentes na mesma linha indicam valores significativamente diferentes pelo teste Tukey para $p < 0,05$ e $n=4$.

	Carapinheira	Carapinheira Roxa	Torres Novas	Bela Feia	Amorim	Lambe-os-dedos
Sacarose	26,1±1,8bc	16,1±1,0c	166,0±61,7a	44,5±12,9bc	85,1±3,5b	80,2±12,4b
Glucose	195,0±0,0bc	134,0±0,0bc	57,3±7,0c	532,0±8,2a	12,6±0,2c	260,0±102,0b
Frutose	301,0±55,1b	404,0±4,1a	296,0±8,4b	272,0±3,8b	257,0±3,4b	375,0±47,1a
Sorbitol	160,0±43,0cd	199,0±3,3abc	130,0±18,7d	228,0±3,8ab	184,0±5,1bc	243,0±23,4a

Tabela 18 - Concentração dos açúcares solúveis nas diferentes variedades regionais, em mg/g de peso seco. Os dados são referentes às amostras de 2021, foram obtidos com um detetor IR e volume de injeção 40 µl. Cada valor corresponde à média de 4 injeções. Letras diferentes na mesma linha indicam valores significativamente diferentes pelo teste Tukey para $p < 0,05$ e $n=4$.

	Noiva	Pardo Lindo	Pêro de Borbela	Pêro Coimbra	Repinau
Sacarose	218,0±9,65a	154,0±6,1b	210,0±45,4a	222,0±7,6a	145,0±8,8b
Glucose	103,0±17,7a	121,0±10,3a	141,0±70,3a	88,1±41,7a	113,0±10,2a
Frutose	250,0±26,6b	278,0±45,3ab	340,0±16,4a	291,0±26,1ab	296,8±22,3ab
Sorbitol	84,0±21,2a	78,5±20,0a	101,0±46,3a	117,6±58,9a	89,4±21,6a

Tabela 19 - Concentração dos açúcares solúveis nas diferentes variedades regionais, em mg/g de peso seco. Os dados são referentes às amostras de 2021, foram obtidos com um detetor IR e volume de injeção 40 µl. Cada valor corresponde à média de 4 injeções. Letras diferentes na mesma linha indicam valores significativamente diferentes pelo teste Tukey para $p < 0,05$ e $n=4$.

	Carapinhreira	Carapinhreira Roxa	Torres Novas	Bela Feia	Amorim	Lambe-os-dedos
Sacarose	125,0±29,7bc	133,6±20,3bc	187,5±36,7a	85,9±21,2c	177,7±10,5ab	174,0±8,7ab
Glucose	149,8±13,0ab	140,4±22,6ab	145,3±37,2ab	196,3±48,9a	122,9±8,4b	113,2±20,5b
Frutose	451,7±23,5a	359,0±20,9b	325,9±12,8bc	345,8±57,1b	255,2±21,5cb	254,0±34,1d
Sorbitol	112,6±7,5c	170,0±10,9ab	148,7±18,0b	199,2±16,3a	195,0±8,4a	187,0±21,7a

Tabela 20 - Concentração dos açúcares solúveis nas diferentes variedades regionais, em mg/g de peso seco. Os dados são referentes às amostras de 2022, foram obtidos com um detetor IR e volume de injeção 40 µl. Cada valor corresponde à média de 4 injeções. Letras diferentes na mesma linha indicam valores significativamente diferentes pelo teste Tukey para $p < 0,05$ e $n=4$.

	Noiva	Pardo Lindo	Pêro de Borbela	Pêro Coimbra	Repinau
Sacarose	197,0±8,7ab	176,0±18,1b	201,0±15,4ab	219,0±26,1a	177,0±4,1b
Glucose	162,0±5,8a	149,0±14,3ab	170,0±11,4a	138,0±4,3b	138,0±8,4b
Frutose	298,0±7,9bc	270,0±13,9d	366,0±18,2a	309,0±12,0b	273,0±1,7cd
Sorbitol	106,0±2,9a	115,0±28,0a	132,0±28,9a	117,6±9,2a	102,0±4,3a

Tabela 21 - Concentração dos açúcares solúveis nas diferentes variedades regionais, em mg/g de peso seco. Os dados são referentes às amostras de 2022, foram obtidos com um detetor IR e volume de injeção 40 µl. Cada valor corresponde à média de 4 injeções. Letras diferentes na mesma linha indicam valores significativamente diferentes pelo teste Tukey para $p < 0,05$ e $n=4$.

	Carapinheira	Carapinheira Roxa	Torres Novas	Bela Feia	Amorim	Lambe-os-dedos
Sacarose	82,2±10,2c	79,7±4,9c	182,0±2,0a	88,9±5,6c	127,0±1,4b	138,0±9,3b
Glucose	158,0±18,0b	154,0±3,4b	203,0±2,1a	161,0±16,3b	148,0±2,0b	178,0±27,6ab
Frutose	295,0±23,4bc	335,0±7,3ab	301,0±12,0abc	274,0±6,5c	251,0±11,1c	352,0±49,8a
Sorbitol	194,0±21,8c	221,0±8,2abc	201,0±16,0bc	243,0±12,4ab	210,0±3,7abc	248,0±34,0a

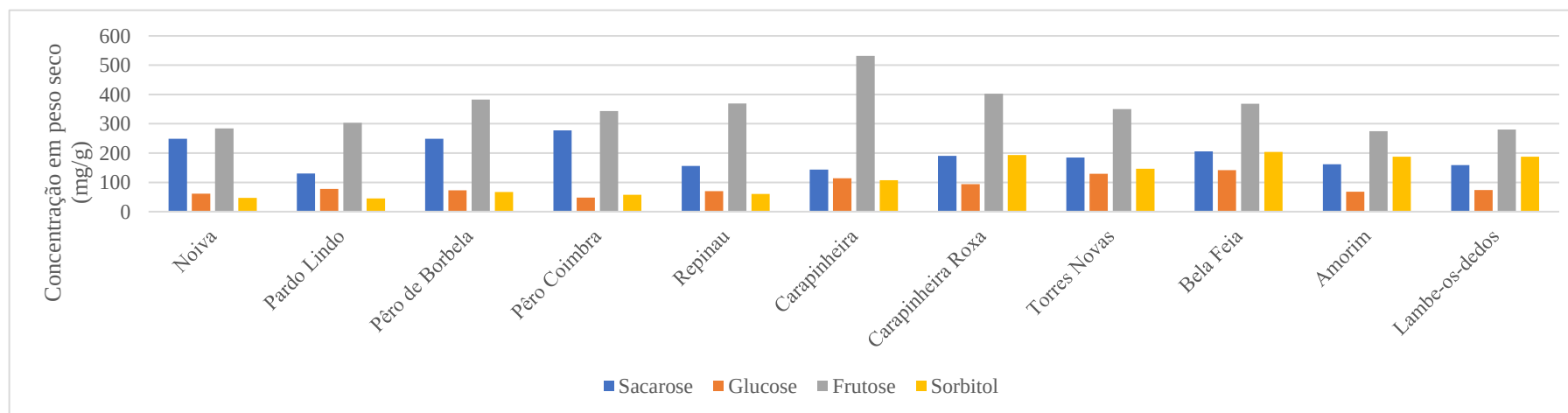


Figura 32 - Gráfico de barras com as diferentes concentrações de açúcares consoante a variedade regional em estudo. Este gráfico refere-se ao ano de 2021, volume de injeção de 10 µl, usando um detetor PDA.

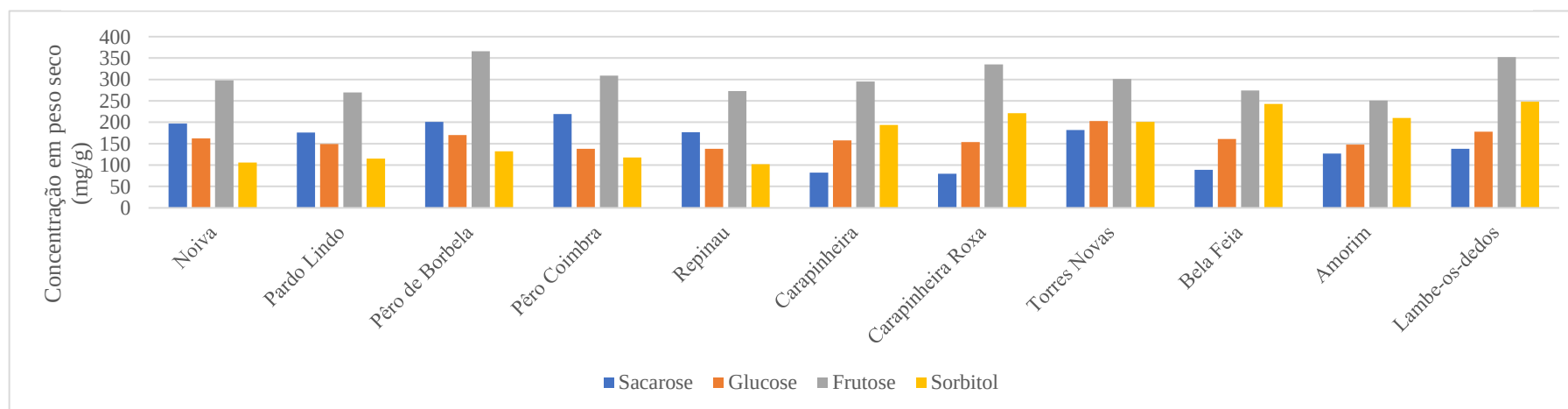


Figura 33 - Gráfico de barras com as diferentes concentrações de açúcares consoante a variedade regional em estudo. Este gráfico refere-se ao ano de 2022, volume de injeção de 40 µl, usando um detetor IR.

Comparando os resultados da concentração, para o mesmo ano, com o mesmo volume de injeção (40 µl), mas usando detetores diferentes, percebe-se que:

- A glucose apresenta valores muito mais baixos quando se usa o detetor PDA, comparativamente com o IR, em ambos os anos.
- No ano 2022, para as variedades de maçã, o sorbitol apresentou valores mais baixos, usando o PDA e maiores com o IR.
- Pontualmente, os valores de sacarose também diferem entre o detetor PDA e IR.

Pelo exposto, verifica-se que, nas condições experimentais utilizadas neste trabalho, não foi possível aferir com precisão as concentrações dos açúcares presentes nas amostras. No caso da utilização do detetor PDA, seria preciso introduzir alterações no protocolo de preparação das amostras, de forma a eliminar os compostos interferentes, como por exemplo incluir uma etapa de diálise que permita separar os compostos de elevado peso molecular. Já no caso do detetor IR, seria conveniente a utilização de um equipamento mais recente, com estabilizador de temperatura, que permita diminuir a instabilidade e obter uma melhor relação sinal-ruído.

No entanto, os resultados obtidos fornecem informação muito importante relativa ao perfil de açúcares de cada variedade de pera e maçã estudadas.

4. Conclusões

Algumas das variedades regionais de fruteiras estão em vias de extinção devido, entre outros fatores, à intensificação da agricultura. A erosão genética é uma realidade que deve ser travada, pois para além de fazerem parte do património Português, possuem características qualitativas diferenciadoras e estão melhor adaptadas às condições edafo-climáticas de cada região.

O estudo destas variedades permite conhecer as características e valorizar os atributos de qualidade das mesmas para que possam entrar no mercado.

Relativamente aos parâmetros de qualidade das variedades regionais em estudo, percebeu-se que:

A pera ‘Lambe-os-dedos’ possui uma qualidade de excelência relativamente às restantes, com uma acidez e teor de matéria seca superior. A firmeza também apresentou valores superiores às restantes, indicando que será menos suscetível a danos físicos e consequentemente terá um tempo de vida útil superior, embora seja das peras mais pequenas.

A maçã ‘Pardo Lindo’ apresenta um teor de sólidos solúveis e de matéria seca superior, demonstrando uma elevada qualidade relativamente às restantes. Contudo, não é a variedade que apresenta maior firmeza nem maior acidez, sendo das maçãs mais pequenas.

Foi possível detetar e quantificar os açúcares usando PDA, independentemente de não terem cromóforos. Contudo, para a determinação exata da concentração de cada açúcar são necessárias alterações no protocolo de preparação das amostras, de forma a eliminar os compostos interferentes.

As concentrações dos diferentes açúcares presentes na maçã aparentam um padrão, em que a frutose é o açúcar maioritário, seguido da sacarose, glucose e por último, o sorbitol.

Nas peras, a frutose é o açúcar predominante em todas as variedades estudadas e a sacarose minoritária. O sorbitol encontra-se presente em maior quantidade nas peras, comparativamente com as maçãs.

Os resultados indicam que estas cultivares têm muito interesse, quer para o consumidor, pelas suas características organoléticas e nutricionais, quer para a indústria alimentar, como fonte de ingredientes naturais ricos em açúcares.

5. Referências Bibliográficas

1. Tendências atuais da fruticultura portuguesa [Internet]. 2019 [citado 20 de março de 2023]. Disponível em: <http://www.agrotec.pt/noticias/tendencias-atuais-da-fruticultura-portuguesa/>
2. Apple Production by Country 2023 [Internet]. [citado 4 de setembro de 2023]. Disponível em: <https://worldpopulationreview.com/country-rankings/apple-production-by-country>
3. Teixeira JD, Soares Mateus AR, Sanchez C, Parpot P, Almeida C, Sanches Silva A. Antioxidant Capacity and Phenolics Profile of Portuguese Traditional Cultivars of Apples and Pears and Their By-Products: On the Way to Newer Applications. *Foods*. 5 de abril de 2023;12(7):1537.
4. AtlasBig [Internet]. 1970 [citado 4 de setembro de 2023]. Top Pear Producing Countries. Disponível em: <https://www.atlasbig.com/en-in/countries-by-pear-production>
5. FAOSTAT [Internet]. 2023 [citado 20 de março de 2023]. Disponível em: <https://www.fao.org/faostat/en/#home>
6. Instituto Nacional de Estatística - Recenseamento Agrícola 2019 [Internet]. 2021. Disponível em: <https://www.ine.pt/xurl/pub/437178558>
7. Portal do INE [Internet]. [citado 26 de junho de 2023]. Disponível em: https://www.ine.pt/xportal/xmain?xpid=INE&xpgid=ine_indicadores&indOcorrCod=0000020&contexto=pi&selTab=tab0&xlang=pt
8. Statistics | Eurostat [Internet]. 2022 [citado 20 de março de 2023]. Disponível em: https://ec.europa.eu/eurostat/databrowser/view/HLTH_EHIS_FV1C__custom_5407458/default/bar?lang=en&page=time:2019
9. INE, Balanços de aprovisionamento de produtos vegetais [Internet]. 2022 [citado 21 de março de 2023]. Disponível em: http://www.ine.pt/xportal/xmain?xpid=INE&xpgid=ine_indicadores&indOcorrCod=0000163&selTab=tab0
10. 74% dos portugueses preocupados com a alimentação saudável – Marketeer [Internet]. 2019 [citado 20 de março de 2023]. Disponível em: <https://marketeer.sapo.pt/74-dos-portugueses-preocupados-com-a-alimentacao-saudavel/>
11. Clean-Label Foods – Um Novo Desafio Para os Rótulos de Alimentos Processados [Internet]. 2021 [citado 20 de março de 2023]. Disponível em: <https://www.sgs.pt/pt-pt/news/2021/11/clean-label-foods>
12. PortugalFoods. PortugalFoods. 2021 [citado 21 de março de 2023]. Tendências de inovação e consumo no setor agroalimentar em 2021. Disponível em: <https://www.portugalfoods.org/noticias/tendencias-de-inovacao-e-consumo-no-setor-agroalimentar-em-2021/>

13. Programa Nacional para a Promoção da Alimentação Saudável 2022-2030. 2023;
14. PortugalFoods. PortugalFoods. 2023 [citado 21 de março de 2023]. Tendências de inovação e consumo no setor agroalimentar em 2023. Disponível em: <https://www.portugalfoods.org/noticias/tendencias-de-inovacao-e-consumo-no-setor-agroalimentar-em-2023/>
15. Consumers Show Strong Interest in Knowing About Food Ingredients: “Clean” Is in, “Chemical-Sounding” Is Out [Internet]. International Food Information Council. 2021 [citado 21 de março de 2023]. Disponível em: <https://ific.org/media-information/press-releases/strong-interest-in-knowing-about-food-ingredients/>
16. Subsetor Maçã - Agrogarante [Internet]. 2022 [citado 21 de março de 2023]. Disponível em: <https://www.agrogarante.pt/pt/noticias/subsetor-maca/>
17. Compal [Internet]. [citado 20 de março de 2023]. Maçã - Origem das Frutas. Disponível em: <https://www.compal.pt/origem-das-frutas/maca/>
18. Instituto Nacional de Estatística - Estatísticas Agrícolas: 2021 [Internet]. 2022 [citado 21 de março de 2023]. Disponível em: https://www.ine.pt/xportal/xmain?xpid=INE&xpgid=ine_publicacoes&PUBLICACOEspub_boui=31589846&PUBLICACOEsmodo=2
19. Clube da Maçã de Alcobaça, O que é a IGP? [Internet]. [citado 21 de março de 2023]. Disponível em: <http://clubedamaca.pt/Page/13410/O-que-%c3%a9-.aspx>
20. Produtos Tradicionais Portugueses - IGP - Indicação Geográfica Protegida [Internet]. [citado 21 de março de 2023]. Disponível em: <https://tradicional.dgadr.gov.pt/pt/produtos-por-regime-de-qualidade/igp-indicacao-geografica-protegida>
21. da Cruz Pereira Fernandes AM. Maçã de Alcobaça FQC: Potencial nutricional e sócio-económico em Portugal [Internet]. [Porto]; 2007 [citado 22 de março de 2023]. Disponível em: https://repositorio-aberto.up.pt/bitstream/10216/54562/3/114181_0703TCD3.pdf
22. Clube da Maçã de Alcobaça, Variedades da Maçã de Alcobaça [Internet]. [citado 21 de março de 2023]. Disponível em: <http://clubedamaca.pt/Page/13515/Variedades-da-Ma%c3%a7%c3%a3-de-Alcoba%c3%a7a.aspx>
23. Pereira, Pyrus communis L - Biorede [Internet]. [citado 4 de setembro de 2023]. Disponível em: <http://www.biorede.pt/natural/page.php?ID=285>
24. Subsetor Pera - Agrogarante [Internet]. 2022 [citado 21 de março de 2023]. Disponível em: <https://www.agrogarante.pt/pt/noticias/subsetor-pera/>
25. Pêra Rocha – LusoPêra [Internet]. [citado 22 de março de 2023]. Disponível em: <https://lusopera.com/pt/pera-rocha/>
26. Produtos Tradicionais Portugueses [Internet]. 2016 [citado 22 de março de 2023]. Pera Rocha do Oeste DOP. Disponível em: <https://tradicional.dgadr.gov.pt>

27. Pera Rocha – Pêra Rocha [Internet]. [citado 22 de março de 2023]. Disponível em: <https://perarocha.pt/pera-rocha/>
28. Lomba-Viana X, Raymundo A, Prista C, Alegria MJ, Sousa I. Clean Label “Rocha” Pear (*Pyrus communis* L.) Snack Containing Juice By-Products and *Euglena gracilis* Microalgae. *Front Nutr.* 16 de fevereiro de 2022;9:825999.
29. Dinis I. A Certificação de Variedades Tradicionais de Maçã. O Caso Particular da DO Bravo de Esmolfe. Em 2007.
30. PLANO NACIONAL PARA OS RECURSOS GENÉTICOS VEGETAIS. 20215.
31. Simões O, Lopes A, Ferreira J. Variedades Regionais e Agricultura Biológica, Desafios para peras e maçãs portuguesas. 2008;
32. Almeida DPF, Pintado M, Malcata FX. Valor nutritivo e composição fitoquímica de variedades de maçã de Alcobaça. 2008;
33. Frutas | Portugal Fresh [Internet]. 2021 [citado 21 de março de 2023]. Disponível em: <https://portugalfresh.org/tipo-de-produto/frutas/>
34. Tabela da Composição de Alimentos – Instituto Nacional de Saúde Dr. Ricardo Jorge (Maçã sem casca) [Internet]. 2021 [citado 5 de abril de 2023]. Disponível em: <https://portfir-insa.min-saude.pt/foodcomp/food?22187>
35. Tabela da Composição de Alimentos – Instituto Nacional de Saúde Dr. Ricardo Jorge (Maçã com casca) [Internet]. [citado 29 de maio de 2023]. Disponível em: <http://portfir.insa.pt/foodcomp/food?21438>
36. Akagić A, Oras A, Gaši F, Meland M, Drkenda P, Memić S, et al. A Comparative Study of Ten Pear (*Pyrus communis* L.) Cultivars in Relation to the Content of Sugars, Organic Acids, and Polyphenol Compounds. *Foods.* 30 de setembro de 2022;11(19):3031.
37. NESTLÉ [Internet]. [citado 11 de abril de 2023]. Pera: Informação Nutricional. Disponível em: <https://saboreiaavida.nestle.pt/bem-estar/pera>
38. Tabela da Composição de Alimentos – Instituto Nacional de Saúde Dr. Ricardo Jorge (Pera; 5 variedades). 2021.
39. Artificial sweeteners versus natural sweeteners. Em: *Bulletin of the Transilvania University of Braşov.* 2014. (V; vol. 7).
40. Ma Y, Ratnasabapathy R, Gardiner J. Carbohydrate Craving- not everything is sweet. *Curr Opin Clin Nutr Metab Care.* julho de 2017;20(4):261–5.
41. Vallée Marcotte B, Verheyde M, Pomerleau S, Doyen A, Couillard C. Health Benefits of Apple Juice Consumption: A Review of Interventional Trials on Humans. *Nutrients.* 16 de fevereiro de 2022;14(4):821.

42. Kolniak-Ostek J. Chemical composition and antioxidant capacity of different anatomical parts of pear (*Pyrus communis* L.). *Food Chem.* 15 de julho de 2016;203:491–7.
43. Reiland H, Slavin J. Systematic Review of Pears and Health. *Nutrition Today.* novembro de 2015;50(6):301–5.
44. Healthline [Internet]. 2019 [citado 21 de setembro de 2023]. 9 Health and Nutrition Benefits of Pears. Disponível em: <https://www.healthline.com/nutrition/benefits-of-pears>
45. Patocka J, Bhardwaj K, Klimova B, Nepovimova E, Wu Q, Landi M, et al. *Malus domestica*: A Review on Nutritional Features, Chemical Composition, Traditional and Medicinal Value. *Plants.* 22 de outubro de 2020;9(11):1408.
46. Pear Fiber Content: Are Pears a Good Source of Fiber [Internet]. USA Pears. 2014 [citado 21 de setembro de 2023]. Disponível em: <https://usapears.org/fiber/>
47. NESTLÉ [Internet]. [citado 5 de setembro de 2023]. Fibras Alimentares. Disponível em: <https://saboreiaavida.nestle.pt/bem-estar/fibras-alimentares>
48. À Roda da Alimentação [Internet]. [citado 5 de setembro de 2023]. Alimentos ricos em fibra. Disponível em: <https://www.arodadaalimentacao.pt/alimentacao/alimentos-ricos-em-fibra/>
49. NESTLÉ [Internet]. [citado 4 de setembro de 2023]. Consumir fibras alimentares. Disponível em: <https://saboreiaavida.nestle.pt/bem-estar/porque-consumir-fibras-alimentares>
50. Viera W, Winefield C. Genetic parameters for fruit mineral content in an interspecific pear (*Pyrus* spp.) population. *New Zealand Journal of Crop and Horticultural Science.* 3 de abril de 2019;47(2):125–41.
51. Franco P. Características Físico-químicas, Propriedades Funcionais e Perfil de Compostos Fenólicos de 17 Variedades de Maças Portuguesas [Internet]. 2014 [citado 20 de junho de 2023]. Disponível em: https://run.unl.pt/bitstream/10362/13134/1/Franco_2014.pdf
52. Fotirić Akšić M, Nešović M, Ćirić I, Tešić Ž, Pezo L, Tosti T, et al. Polyphenolics and Chemical Profiles of Domestic Norwegian Apple (*Malus × domestica* Borkh.) Cultivars. *Front Nutr.* 30 de junho de 2022;9:941487.
53. Acquavia M, Pascale R, Foti L, Carlucci G, Scrano L, Martelli G, et al. Analytical Methods for Extraction and Identification of Primary and Secondary Metabolites of Apple (*Malus domestica*) Fruits: A Review. *Separations.* 25 de junho de 2021;8(7):91.
54. da Silva PDM. Evaluation of Sugars And Artificial Sweeteners in Soft Drinks: A Decade of Evolution. 2019.
55. Australia H. Carbohydrates [Internet]. Healthdirect Australia; 2023 [citado 30 de maio de 2023]. Disponível em: <https://www.healthdirect.gov.au/carbohydrates>

56. Bobiş O, Dezmirean DS, Moise AR. Honey and Diabetes: The Importance of Natural Simple Sugars in Diet for Preventing and Treating Different Type of Diabetes. *Oxidative Medicine and Cellular Longevity*. 2018;2018:1–12.
57. WHO | JECFA [Internet]. [citado 20 de junho de 2023]. Disponível em: <https://apps.who.int/food-additives-contaminants-jecfa-database/Home/Chemical/829>
58. Soares A. Avaliação da qualidade físico-química e sensorial de frutas durante o armazenamento e comercialização [Internet]. 2015 [citado 19 de junho de 2023]. Disponível em: <https://ria.ua.pt/bitstream/10773/14910/1/Tese.pdf>
59. Normas de Comercialização e Rotulagem | Normas de Comercialização e Rotulagem | Mercados Agrícolas | PRODUÇÃO E MERCADOS [Internet]. [citado 20 de julho de 2023]. Disponível em: <https://www.gpp.pt/index.php/en/normas-de-comercializacao-e-rotulagem/normas-de-comercializacao-hortofruticolas>
60. Avaliação da qualidade e maturação dos frutos [Internet]. AGRICULTURA E MAR. 2021 [citado 11 de abril de 2023]. Disponível em: <https://agriculturaemar.com/avaliacao-da-qualidade-e-maturacao-dos-frutos/>
61. Rodrigues ICN. Avaliação de parâmetros de qualidade em melancia cultivada na região do Ladoeiro.
62. Gomes RCB. Previsão do estado de maturação, qualidade e relação do potencial de conservação com o índice de maturação medido com o ‘DA-meter’ em pera ‘Rocha’.
63. Agulheiro Santos AC. Importância e métodos físicos de avaliação da qualidade da matéria prima.
64. Pereira CL. Monitorização da conservação de pêra ‘Rocha’: avaliação de características de qualidade.
65. Siddiqui MW. Preharvest modulation of postharvest fruit and vegetable quality. London: Elsevier / Academic press; 2018.
66. Alexandre MRL. MAÇÃ CASA NOVA DE ALCobaça. INFLUÊNCIA DO MODO DE PRODUÇÃO NA QUALIDADE.
67. Factores de calidad de fruta de pepita, INDICES DE MADURACIÓN PARA MANZANA [Internet]. [citado 5 de setembro de 2023]. Disponível em: http://www.fomesa.net/Calidad/Factores/F_03_10_5.htm
68. Sociedade Portuguesa de Inovação [Internet]. [citado 5 de setembro de 2023]. Disponível em: <https://www.spi.pt/documents/books/hortofruticolas/Wc4d39b0483900.asp>
69. Toivonen PMA, Lannard B. Dry matter content association with time of on-tree maturation, quality at harvest, and changes in quality after controlled atmosphere storage for ‘Royal Gala’ apples. Beres B, editor. *Can J Plant Sci*. 1 de fevereiro de 2021;101(1):98–106.

70. Goke A, Serra S, Musacchi S. Postharvest Dry Matter and Soluble Solids Content Prediction in d'Anjou and Bartlett Pear Using Near-infrared Spectroscopy. *hort. maio de 2018*;53(5):669–80.
71. Portal de Engenharia Química - Fundamentos [Internet]. [citado 18 de maio de 2023]. Disponível em: <http://labvirtual.eq.uc.pt/siteJoomla/index.php?Itemid=451#1>
72. Sousa DIT. Validação de Método Analítico por Cromatografia Líquida de Alta Eficiência (HPLC) de um Medicamento de associação dupla (20mg + 40mg) [Internet]. 2018 [citado 18 de maio de 2023]. Disponível em: <http://hdl.handle.net/10362/58223>
73. Guerra JK. Desenvolvimento e validação de um método HPLC-FLD para a quantificação do glifosato e AMPA em águas de consumo. 2021;
74. Costa JCD. Validação de um Método de Cromatografia de Alta Eficiência para Determinação de Conservantes em Géneros Alimentícios. 2015;
75. Como funciona a cromatografia líquida de alto desempenho (HPLC, High Performance Liquid Chromatography)? | Waters [Internet]. [citado 21 de setembro de 2023]. Disponível em: <https://www.waters.com/nextgen/pt/pt/education/primers/beginner-s-guide-to-liquid-chromatography/how-does-high-performance-liquid-chromatography-work.html>
76. Ferro SA. Validação de Métodos Cromatográficos para a Análise de Medicamentos [Internet]. 2010 [citado 19 de maio de 2023]. Disponível em: https://ria.ua.pt/bitstream/10773/3643/1/Tese_mestrado.pdf
77. Corporation HHT. Hitachi High-Tech Corporation. [citado 19 de setembro de 2023]. 7. Principle and Feature of Various Detection Methods (1). Disponível em: <https://www.hitachi-hightech.com/global/en/knowledge/analytical-systems/hplc/hplc-basics/course7.html>
78. Laboratorio A de. Ciencia y Datos. 2022 [citado 16 de agosto de 2023]. Diferentes tipos de detectores HPLC. Disponível em: <https://cienciaydatos.org/cromatografia/liquida/diferentes-tipos-de-detectores-hplc/>
79. Jalaludin I, Kim J. Comparison of ultraviolet and refractive index detections in the HPLC analysis of sugars. *Food Chemistry*. 15 de dezembro de 2021;365:130514.
80. HPLC and UHPLC Detectors - PT [Internet]. [citado 16 de agosto de 2023]. Disponível em: <https://www.thermofisher.com/uk/en/home/industrial/chromatography/liquid-chromatography-lc/hplc-uhplc-components/hplc-uhplc-detectors.html>
81. Lição 6: Detectores para HPLC | Colunas e Padrões Shodex HPLC [Internet]. [citado 16 de agosto de 2023]. Disponível em: <https://www.shodex.com/en/kouza/f.html#anc-01>
82. Konstantinou S, Karaoglanidis GS, Bardas GA, Minas IS, Doukas E, Markoglou AN. Postharvest Fruit Rots of Apple in Greece: Pathogen Incidence and Relationships

- Between Fruit Quality Parameters, Cultivar Susceptibility, and Patulin Production. *Plant Dis.* junho de 2011;95(6):666–72.
83. Alkan N, Fortes AM. Insights into molecular and metabolic events associated with fruit response to post-harvest fungal pathogens. *Frontiers in Plant Science* [Internet]. 2015 [citado 19 de setembro de 2023];6. Disponível em: <https://www.frontiersin.org/articles/10.3389/fpls.2015.00889>
84. Magwaza LS, Opara UL. Analytical methods for determination of sugars and sweetness of horticultural products—A review. *Scientia Horticulturae*. março de 2015;184:179–92.