



UNIVERSIDADE ESTADUAL DE CAMPINAS - UNICAMP
FACULDADE DE ENGENHARIA DE ALIMENTOS

ENIELUCE DOS SANTOS BRITO

**AVALIAÇÃO DA CAPACIDADE ANTIOXIDANTE DE VARIEDADES
DE MELÃO (*Cucumis melo* L.) COMERCIALIZADAS NO BRASIL E
DETERMINAÇÃO DO TEOR DE GLUTATIONA REDUZIDA (GSH)**

CAMPINAS

2017

**AVALIAÇÃO DA CAPACIDADE ANTIOXIDANTE DE VARIEDADES DE
MELÃO (*Cucumis melo* L.) COMERCIALIZADAS NO BRASIL E
DETERMINAÇÃO DO TEOR DE GLUTATIONA REDUZIDA (GSH)**

*Tese apresentada à Faculdade de
Engenharia de Alimentos da Universidade
Estadual de Campinas como parte dos
requisitos exigidos para a obtenção do título
de Doutora em Ciência de Alimentos.*

Orientadora: Profa. Dra. Glaucia Maria Pastore

Coorientadora: Dra. Vera Sônia Nunes da Silva

ESTE EXEMPLAR CORRESPONDE À VERSÃO
FINAL DA TESE DEFENDIDA PELA ALUNA
ENIELUCE DOS SANTOS BRITO, E ORIENTADA
PELA PROFA. DRA. GLAUCIA MARIA PASTORE.

CAMPINAS

2017

Agência(s) de fomento e nº(s) de processo(s): Não se aplica.

Ficha catalográfica
Universidade Estadual de Campinas
Biblioteca da Faculdade de Engenharia de Alimentos
Claudia Aparecida Romano - CRB 8/5816

Brito, Enieluce dos Santos, 1965-
B777a Avaliação da capacidade antioxidante de variedades de melão (*Cucumis melo* L.) comercializadas no Brasil e determinação do teor de glutathione reduzida (GSH) / Enieluce dos Santos Brito. – Campinas, SP : [s.n.], 2017.

Orientador: Glaucia Maria Pastore.
Coorientador: Vera Sônia Nunes da Silva.
Tese (doutorado) – Universidade Estadual de Campinas, Faculdade de Engenharia de Alimentos.

1. Glutathione. 2. Cromatografia líquida de alta eficiência. 3. Melão. 4. Capacidade antioxidante. 5. Compostos bioativos. I. Pastore, Glaucia Maria. II. Nunes da Silva, Vera Sônia. III. Universidade Estadual de Campinas. Faculdade de Engenharia de Alimentos. IV. Título.

Informações para Biblioteca Digital

Título em outro idioma: Evaluation of antioxidant capacity of varieties of melon (*Cucumis melo* L.) commercialized in Brazil and determination of the content of reduced glutathione (GSH)

Palavras-chave em inglês:

Glutathione

High performance liquid chromatography

Melon

Antioxidant capacity

Bioactive compounds

Área de concentração: Ciência de Alimentos

Titulação: Doutora em Ciência de Alimentos

Banca examinadora:

Glaucia Maria Pastore [Orientador]

Daniel Granato

Juliano Lemos Bicas

Solange Guidolin Canniatti Brazaca

Sonia Claudia do Nascimento de Queiroz

Data de defesa: 12-09-2017

Programa de Pós-Graduação: Ciência de Alimentos

BANCA EXAMINADORA

Prof^a Dr^a Glaucia Maria Pastore
(Orientadora)

Prof. Dr. Daniel Granato
(Membro Titular)
Universidade Estadual de Ponta Grossa

Prof^a Dr^a Solange Guidolin Canniati Brazaca
(Membro Titular)
Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz – ESALQ/ USP

Prof. Dr. Juliano Lemos Bica
(Membro Titular)
Universidade Estadual de Campinas - FEA

Prof^a Dr^a Sônia Claudia do Nascimento de Queiroz
(Membro Titular)
Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária - EMBRAPA

A ata da defesa com as respectivas assinaturas dos membros encontra-se no
processo de vida acadêmica do aluno.

Agradecimentos

Agradeço a Deus por todas as oportunidades recebidas, Seu suporte e por permitir a realização deste sonho.

Aos meus pais, Maria e Lourival, pelo amor incondicional e apoio.

Às minhas irmãs Lu, Marise e Márcia que sempre torceram por mim, em especial a Cão e Aline pelas constantes palavras de apoio e incentivo.

Ao meu filho amado Rafael por todo amor e ao meu netinho amado Enzo pela luz que irradia.

À Profa. Dra. Glaucia M. Pastore pela orientação e oportunidade de aprendizado.

À Dra. Vera Sonia N. da Silva pela coorientação, apoio, amizade e dedicação.

Ao Centro de Ciência e Qualidade de Alimentos do ITAL por proporcionar a realização deste trabalho. Em especial aos meus amigos de trabalho por todo carinho e incentivo: Rosana, Magali, Natália Scalon, Raquel, Fer, Adriana, Marta, Priscila, Caroline, Ingrid, Cláudia, Celeste, Lucía, Júlia e a estagiária Thaís

À Faculdade de Engenharia de Alimentos da UNICAMP, em especial à Angélica pela disponibilidade e ajuda.

Às amigas Rô, Giovana, Fabíola, Del, Zezé, Ciddá que sempre torceram por mim.

Aos membros da banca examinadora pelas correções e valiosas sugestões.

Ao Cosme e funcionários da secretaria de pós-graduação pela dedicação e ajuda.

Muito obrigada!

"No meio da dificuldade vive a oportunidade."

(Albert Einstein)

RESUMO

Frutas e outros vegetais são apontados como fontes naturais de compostos bioativos e antioxidantes. Atualmente o melão brasileiro é uma das frutas de produção mais expressiva no país com níveis de exportação da ordem de 200 mil toneladas/ano. A qualidade exigida pelo mercado importador vem ocasionando a rejeição de muitos frutos que poderiam ser direcionados ao mercado interno, tornando evidente a necessidade de estudar seu potencial para agregar valor mediante o seu aproveitamento. O objetivo deste estudo foi caracterizar polpas e cascas de melões (*Cucumis melo* L.) dos tipos Amarelo, Gália, Pele de Sapo (Verde), Cantaloupe, Honeydew (Orange) e Matisse (Snow Leopard) através de análises da composição centesimal e aminoacídica, do conteúdo de carotenoides e fenólicos totais, estimativa da capacidade antioxidante (DPPH e ORAC), e da adequação de um método analítico para quantificação da glutathione reduzida (GSH) - que desempenha múltiplas funções, com destaque na manutenção do equilíbrio redox celular. A determinação da GSH utilizou técnica cromatográfica em coluna de fase reversa e detecção por fluorescência (CLAE-FD). Os frutos apresentaram concentrações variadas de GSH em suas polpas (1,52 a 6,05 nmol g⁻¹), com o melão Amarelo apresentando a maior concentração, seguido dos melões Gália e Cantaloupe. As cascas apresentaram conteúdo de GSH de 1,41 a 3,67 nmol g⁻¹, valores inferiores às concentrações encontradas nas polpas, com exceção do melão Matisse cujo conteúdo na casca correspondeu ao dobro do encontrado na polpa. Cascas e polpas revelaram conteúdos consideráveis de aminoácidos. A somatória indicou para polpas, equivalente protéico de 4,42% a 9,12%. Nas cascas o valor mínimo foi de 6,63% e o máximo de 11,11%. Os teores de fibra alimentar nas polpas foram de 6 a 9% e nas cascas de 36 a 50%. Os teores de carotenoides totais nas polpas dos melões Cantaloupe e Orange foram 33,8 e 38,9 mg 100g⁻¹, respectivamente, e nas demais variedades os valores foram inferiores a 1,2 mg 100 g⁻¹. Nas cascas o Verde apresentou 71,2 mg 100g⁻¹ e o Cantaloupe 35,2 mg 100g⁻¹, os demais tipos apresentaram valores inferiores a 8,5 mg 100g⁻¹. Todos os frutos apresentaram altos teores de compostos fenólicos totais, com predominância nas cascas. As polpas variaram de 248 a 334 mg equivalente ácido gálico (GAE) 100g⁻¹. Nas cascas o maior teor foi para o Matisse 1048 mg GAE 100g⁻¹ seguido do Verde

com 714 mg GAE 100g⁻¹, e as demais variaram de 430 a 550 mg GAE 100g⁻¹. Na atividade antioxidante (DPPH) em base úmida, o valor encontrado de concentração eficiente (EC₅₀) nas polpas foi de 4,6 a 7,6 mg mL⁻¹ e para as cascas de 0,5 a 4,0 mg mL⁻¹. No ensaio ORAC (base úmida), o valor obtido foi de 14 µM TE 100 g⁻¹ nas polpas do Cantaloupe, Amarelo e Verde, já para o Gália, Matisse e Orange foi de 1,0; 6,7 e 10,7 µM TE 100 g⁻¹, respectivamente. As cascas variaram de 5,5 a 29,7 µM TE 100 g⁻¹. Os compostos bioativos encontrados na polpa e casca da fruta justifica seu aproveitamento, contribuindo na diminuição do desperdício de alimentos.

ABSTRACT

Fruits and others vegetables are singled out as natural sources of bioactive compounds and antioxidants. Currently the Brazilian melon is one of the most significant fruits in terms of production, with exports around 200,000 tons/year. The quality demanded by the importing market has been causing the rejection of many fruits that could be directed to the internal market, making clear the need to study its potential to add value by its exploitation. The objective of the present study was to characterize the pulps and peels of melons (*Cucumis melo* L.) of different types, Amarelo, Galia, Pele de Sapo (Verde), Cantaloupe, Honeydew (Orange) and Matisse (Snow Leopard), by the use of proximate composition analysis, aminoacid composition analysis, carotenoids and total phenolics contents, estimation of antioxidant capacity (DPPH and ORAC), and adaptation of an analytical method for quantification of reduced Glutathione (GSH), which plays many roles, mainly on the maintenance of cellular redox balance. GSH was determined through reverse phase high performance liquid chromatography with fluorescence detection (HPLC-FLD). The fruits showed varied concentrations of GSH in their pulp (1.52 to 6.05 nmol g⁻¹), with Amarelo melon showing the highest concentration, followed by Galia and Cantaloupe melons. The peels presented GSH content of 1.41 to 3.67 nmol g⁻¹, values below the ones found in the pulps, with exception for the Matisse melon which contents in the peel was twice the one found in the pulp. Results revealed considerable amino acid content in peel and pulp. For pulps, the sum showed protein equivalent of 4.42 to 9.12%. In the peels, the minimum value was 6.63% and the maximum was 11.11%. The levels of dietary fiber in the pulps were from 6 to 9% and in the peels from 36 to 50%. Total carotenoids content in pulp of Cantaloupe and Orange melons were 33.8 and 38.9 mg 100 g⁻¹, respectively, while in other varieties the values were lower than 1.2 mg 100 g⁻¹. In peel, Verde melon presented 71.2 mg 100 g⁻¹ and Cantaloupe 35.2 mg 100 g⁻¹, the others presented levels below 8.5 mg 100 g⁻¹. All the fruits presented high levels of phenolic compounds, with a predominance in the peel. Gallic acid equivalent (GAE) in the pulps ranged from 248 to 334 mg 100 g⁻¹. In peels the highest content was for the Matisse melon, 1048 mg GAE 100 g⁻¹, followed by Verde with 714 mg GAE 100 g⁻¹. Other melons ranged from 430 to 550 mg GAE 100 g⁻¹. For antioxidant activity (DPPH) on wet basis, the value

for efficient concentration (EC_{50}) in the pulps was from 4.6 to 7.6 mg mL⁻¹ and for the peels from 0.5 to 4.0 mg mL⁻¹. As for the ORAC test, Cantaloupe, Amarelo and Verde presented a level of 14 μ M TE 100 g⁻¹, while Gaul, Matisse and Orange were 1.0; 6.7 and 10.7 μ M TE 100 g⁻¹, respectively. Peels varied from 5.5 a 29.7 μ M TE 100 g⁻¹. The bioactive compounds found in pulp and fruit peel justify the melon use, contributing to the reduction of food waste.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1. Melão Amarelo	26
Figura 2. Melão Verde	26
Figura 3. Melão Honeydew Orange	27
Figura 4. Melão Matisse	27
Figura 5. Melão Gália	27
Figura 6. Melão Cantaloupe	28
Figura 7. Estruturas moleculares de alguns carotenoides (a) carotenos, (b) xantofilas	29
Figura 8. Estrutura química e clivagem do β -caroteno	31
Figura 9. Estruturas moleculares de (a) ácido ferúlico ($R = -OCH_3$) ou ácido cafeico ($R = -OH$), (b) rutina, (c) ácido clorogênico, (d) ácido gálico	36
Figura 10. Classificação de antioxidantes. Alguns antioxidantes não enzimáticos sintetizados pelo corpo humano e derivados de fontes alimentares	38
Figura 11. Biossíntese da glutathiona. Enzimas envolvidas: (a) γ - glutamylcisteína sintetase e (b) glutathiona sintetase; (c) γ - glutamylcyclotransferase, e butionina sulfoximina (BSO), inibidor da biossíntese da glutathiona. Os aminoácidos: (2) ácido glutâmico, (3) cisteína, e o dipeptídeo: (4) γ -L-glutamyl-L-cisteína, e o derivado de aminoácido: (5) 5-oxoprolina	43
Figura 12. Fórmulas estruturais: (a) glutathiona unida à proteína, (b) glutathiona reduzida (GSH), seu grupo ativo é o grupo SH do resíduo de cisteína, (c) glutathiona oxidada (GSSG), formada por duas moléculas de GSH unidas por uma ligação dissulfeto	44
Figura 13. Apresentação dos resultados obtidos pela leitora de microplacas	62
Figura 14. Reação de derivatização da glutathiona reduzida com OPA para determinação por CLAE-FD	64
Figura 15. Curva analítica padrão de GSH obtida por CLAE-FD	88
Figura 16. Cromatograma do padrão de GSH obtido na análise CLAE-FD	89
Figura 17. Cromatograma da polpa liofilizada do melão Cantaloupe + padrão GSH obtido por CLAE-FD	91
Figura 18. Cromatograma da polpa liofilizada do melão Cantaloupe obtido por CLAE-FD	92

Figura 19. Cromatograma da casca liofilizada do melão Cantaloupe obtido por CLAE-FD 93

Figura 20. Concentração de GSH nas polpas e cascas de melões adquiridos em outubro/2014 e maio/2016 96

LISTA DE TABELAS

Tabela 1. Classe de compostos fenólicos em plantas	34
Tabela 2. Métodos descritos na literatura para a determinação da GSH	53
Tabela 3. Caracterização físico-química das polpas em base seca	66
Tabela 4. Caracterização físico-química das polpas em base úmida	67
Tabela 5. Caracterização físico-química das cascas em base seca	69
Tabela 6. Caracterização físico-química das cascas em base úmida	70
Tabela 7. Concentração de aminoácidos em polpas de melões em base seca	72
Tabela 8. Concentração de aminoácidos em cascas de melões em base seca	73
Tabela 9. Concentração de aminoácidos em polpas de melões em base úmida	74
Tabela 10. Concentração de aminoácidos em cascas de melões em base úmida	75
Tabela 11. Concentração de β -caroteno em polpas e cascas de melões	76
Tabela 12. Concentração de carotenóides totais em polpas e cascas de melões expressos como β -caroteno	77
Tabela 13. Concentração de equivalente de vitamina A em polpas e cascas de melões	78
Tabela 14. Concentração de compostos fenólicos de polpas e cascas de melões	79
Tabela 15. Capacidade antioxidante total de polpas e cascas determinada pelo método DPPH	84
Tabela 16. Capacidade antioxidante total de polpas e cascas determinada pelo método ORAC	88
Tabela 17. Comparação dos limites de detecção e quantificação do método desenvolvido e os reportados na literatura para o analito GSH	90
Tabela 18. Recuperação obtida para glutathiona reduzida (GSH) analisando a polpa do melão Cantaloupe	90
Tabela 19. Recuperação obtida para glutathiona reduzida (GSH) analisando a casca do melão Cantaloupe	91
Tabela 20. Concentração de glutathiona reduzida – GSH em amostras liofilizadas maio/2016.	94
Tabela 21. Concentração de glutathiona reduzida (GSH) em amostras liofilizadas outubro/2014 e analisadas em junho/2016	95

LISTA DE ABREVIATURAS

AAPH	2,2'-Azobis(2-metilpropanoamidina)
ABTS	2,2-Azinobis-(3-etilbenzotiazolina-6-sulfonato, sal de diamônio)
AUC	“Area-under-curve” - Área sob a curva
CAT	Catalase
CE	Eletroforese capilar
CLAE	Cromatografia Líquida de Alta Eficiência
CZE	Eletroforese Capilar de Zona
DAD	Detector arranjo de diodos
DNA	Ácido desoxirribonucleico
DPPH•	Radical (2,2-difenil-1-picrilhidrazil)
DTNB	Ácido 5,5' ditio-bis-(2-nitrobenzóico)
EC₅₀	Concentração eficiente
ECD	Detector eletroquímico
EDTA	Ácido etilenediaminotetra-acético
ERCI	Espécie reativa de cloro
ERN	Espécie reativa de nitrogênio
ERO	Espécie reativa de oxigênio
ESI-MS/MS	Ionização por eletrospray massa/massa
FD	Detector de fluorescência
GAE	Equivalente em ácido gálico
GC	Cromatografia gasosa
GR	Glutathione Redutase
GSH	Glutathione reduzida
GSH-Px	Glutathione Peroxidase
GSSG	Glutathione oxidada
GT	Glutathione Transferase
IC₅₀	Concentração inibitória
MS	Espectrometria de massa
NADPH	Nicotinamida adenina dinucleotideo fosfato
NEM	N-etilmaleimida
OPA	O-ftalaldeido

ORAC *Oxygen-Radical Absorbancy Capacity* – Capacidade de absorbância do radical oxigênio

SOD Superóxido dismutase

TE Equivalente Trolox

TEAC “Trolox Equivalent Antioxidant Capacity” – Capacidade antioxidante

TRAP “Total Radical - Trapping Antioxidant Parameter”

TROLOX Ácido 6-hidroxi-2,5,7,8-tetrametilcroman-2-carboxílico

UV Detector UV

UV-Vis Detector UV-Vis

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO GERAL	19
2. OBJETIVOS	22
2.1. Objetivo geral	22
2.2. Objetivos específicos	22
3. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	23
3.1. Fruticultura brasileira	23
3.2. Melão	24
3.3. Carotenoides	28
3.4. Compostos fenólicos	33
3.5. Antioxidantes	37
3.6. Métodos para Determinação da Capacidade Antioxidante	40
3.7. Glutathione	42
3.8. Métodos Analíticos para Análise da Glutathione	46
3.8.1. Método espectrofotométrico	46
3.8.2. Método de Bioluminescência	47
3.8.3. Método de eletroforese capilar (CE)	48
3.8.4. Método de cromatografia gasosa acoplado ao detector de espectrometria de massa (GC-MS)	48
3.8.5. Método Eletroquímico	49
3.8.6. Método de Cromatografia Líquida de Alta Eficiência (CLAE)	49
3.8.6.1. Cromatografia Líquida de Alta Eficiência com Detector de UV-Vis	50
3.8.6.2. Cromatografia Líquida de Alta Eficiência com Detector Eletroquímico (CLAE-ECD)	50
3.8.6.3. Cromatografia Líquida de Alta Eficiência com Detector Espectrometria de Massa (CLAE-MS)	51
3.8.6.4. Cromatografia Líquida de Alta Eficiência com Detector de Fluorescência (CLAE-FD)	51
3.8.7. Métodos analíticos definidos neste estudo para Determinação de Glutathione	52
4. MATERIAL E MÉTODOS	56

4.1. Amostras	56
4.2. Reagentes	56
4.3. Tratamento e armazenamento dos frutos de melão	57
4.4. Caracterização físico-química dos melões (cascas e polpas)	57
4.4.1. Composição centesimal	57
4.4.2. Aminoácidos totais por derivatização pré-coluna	57
4.5. β -caroteno, Vitamina A e Carotenoides totais expressos como β -caroteno	58
4.6. Compostos fenólicos totais	59
4.7. Atividade antioxidante	60
4.7.1. Método DPPH	60
4.7.2. Método ORAC	60
4.8. Determinação da Glutathione	62
4.8.1. Curva analítica padrão de GSH	63
4.8.2. Quantificação da GSH nas amostras de melões liofilizados por CLAE-FD	64
4.9. Análise estatística	65
5. RESULTADOS E DISCUSSÃO	66
5.1. Caracterização físico-química	66
5.1.1. Composição centesimal	66
5.1.2. Aminoácidos	70
5.2. β -caroteno, Vitamina A e Carotenoides totais	76
5.3. Compostos fenólicos totais pelo método de Folin Ciocalteu	79
5.4. Atividade antioxidante	82
5.4.1. Método DPPH	82
5.4.2. Método ORAC	85
5.5. Resultados da Determinação da GSH	87
5.5.1. Curva padrão da GSH	87
5.5.2. Limites de detecção e quantificação	89
5.5.3. Análise de recuperação	90
5.5.4. Resultados dos ensaios de GSH em amostras de melões por CLAE-FD	92
5.5.5. Análise de estabilidade	95
6. CONCLUSÃO	97

7. CONSIDERAÇÕES FINAIS	98
8. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	99

1. INTRODUÇÃO GERAL

A necessidade de aprofundar conhecimentos relacionados aos alimentos, com enfoque na sua qualidade, segurança e efeitos benéficos à saúde, tem incentivado o desenvolvimento de metodologias analíticas cada vez mais acuradas para avaliação de seus componentes. Atualmente existe um grande interesse no estudo dos antioxidantes devido, principalmente, às descobertas sobre o efeito dos radicais livres no organismo. E muitos estudos têm indicado que há forte correlação entre o desenvolvimento de várias desordens crônicas (câncer, diabetes, mal de Alzheimer) e o hábito alimentar (LESTER, 1997; JOHANSEN et al., 2005; VASCONCELOS et al., 2007; HERRERA et al., 2009, PARK & YOU, 2010; SUCUPIRA et al., 2012). Frutas e vegetais fazem parte do grupo de alimentos associados a uma alimentação saudável, sendo que seu consumo rotineiro tem mostrado contribuir para a diminuição dos riscos de ocorrência das doenças crônicas não transmissíveis.

A fruticultura é um dos setores de maior destaque do agronegócio brasileiro. Com uma grande variedade de culturas, produzidas em todo o país e em diversos climas, a fruticultura conquista resultados expressivos e gera oportunidades. O Brasil é o terceiro maior produtor de frutas no mundo, ficando atrás apenas da China e Índia, o que mostra a relevância do setor para a economia brasileira conforme dados de 2012 da Organização das Nações Unidas para Alimentação e Agricultura (FAO). O Brasil foi responsável pela produção de 43,6 milhões de toneladas de frutas em 2013 e as frutas mais exportadas em 2014 foram o melão com 196.850 toneladas e a manga com 133.033 toneladas, segundo IBRAF: Anuário Brasileiro da Fruticultura (2015).

Além de serem ricas em nutrientes, as frutas apresentam em sua composição compostos bioativos, sendo que alguns deles exercem atividades antioxidantes tais como o alfa-tocoferol (vitamina E), o beta caroteno (pró-vitamina A), o ácido ascórbico (vitamina C) e os compostos fenólicos destacando-se os flavonoides e poliflavonoides (DAVID & BARREIROS, 2006; CORRÊA, 2013).

Além destes antioxidantes provenientes da dieta, existem os antioxidantes produzidos pelo corpo que agem enzimaticamente, a exemplo da enzima glutationala peroxidase, catalase e superóxido-dismutase (PENNINSCKX, 1999) ou, não

enzimaticamente, a exemplo das proteínas ligadas ao ferro (transferrina e ferritina), ácido diidrolipóico e glutathione (GSH).

Nos últimos anos tem aumentado o interesse em mensurar os grupos tióis, em particular a glutathione, como indicador do estresse oxidativo. A proporção glutathione reduzida/glutathione oxidada (GSH/GSSG) é usada para avaliar o status do estresse oxidativo em sistemas biológicos e alterações desta razão tem sido demonstrada no aumento do câncer, replicação do HIV e doenças cardiovasculares (SERRU et al., 2001; DEMIRKOL et al., 2004; PERRICONE et al., 2009). O desequilíbrio entre a formação e a remoção dos radicais livres no organismo, decorrente da diminuição dos antioxidantes endógenos ou do aumento da geração de espécies oxidantes, gera um estado pró-oxidante que favorece a ocorrência de lesões oxidativas em macromoléculas e estruturas celulares, o que pode ocasionar a morte celular. Existe uma importante correlação entre os níveis de glutathione em sua forma reduzida e os mecanismos enzimáticos de defesa, segundo Rover-Jr. et al. (2000) esta observação ainda necessita de uma série de estudos. A glutathione tem papel crucial em numerosas reações metabólicas e bioquímicas como: síntese e reparação de DNA, síntese protéica, transporte de aminoácidos, reações enzimáticas, metabolismo do enxofre (MARZAL, 2005; CORRÊA, 2013).

Já para os carotenóides, são atribuídas funções como redução do risco de certos tipos de câncer; doenças cardiovasculares; degeneração macular e catarata (HANDELMAN, 2001; GERTH et al., 2004; TAPIERO et al., 2004; KRINSKY & JOHNSON, 2005; NISHINO et al., 2009). Os carotenóides também apresentam atividade imunoestimuladora, inibindo a progressão de doenças (RODRIGUEZ-AMAYA, 1999), além de inativadores naturais eficientes do oxigênio singlete e radicais peroxila (CERQUEIRA et al., 2007). Estas propriedades antioxidantes dos carotenóides são corroboradas por Vasconcelos et al. (2007) na afirmação da capacitação destes em capturar radicais e espécies como o oxigênio singlete.

Outra grande classe dos fitoquímicos presentes em frutas e hortaliças são os compostos fenólicos, sendo que a quantificação dessas substâncias revela informações a respeito da atividade antioxidante, qualidade do alimento e dos potenciais benefícios à saúde. De estruturas variadas são considerados os antioxidantes mais ativos nos vegetais (BALASUNDRAM et al., 2005; SUCUPIRA et al., 2012). Apresentam variações quantitativas e qualitativas na composição desses constituintes em função de fatores intrínsecos (cultivar, variedade, estágio de

maturação) e extrínsecos (condições climáticas e edáficas). Por sua vez, a eficácia da ação antioxidante depende da concentração destes fitoquímicos no alimento (REYNERSTON et al., 2008; MELO et al., 2008).

A atividade antioxidante pode ser monitorada pelos efeitos que os antioxidantes proporcionam no controle da extensão da oxidação. Sendo que, os métodos utilizados para a medida dessa atividade são bastante diversificados (BECKER et al., 2004; PRIOR et al., 2005). As diferentes formas de atuação dos vários tipos de radicais livres nos organismos implicam na busca de metodologias diferenciadas e eficientes para a sua quantificação. Preconiza-se adotar duas ou mais técnicas analíticas na avaliação da capacidade de antioxidantes (HUANG et al., 2005; ALVES et al., 2010).

Diante do exposto, o objetivo deste estudo foi evidenciar o potencial de fitoquímicos com capacidade antioxidante em variedades de melão (*Cucumis melo* L.) comercializadas no Brasil, presentes nas polpas e cascas dos frutos, com destaque para a quantificação da glutathiona reduzida (GSH), considerada um metabólito antioxidante multifuncional em plantas e animais, sendo fundamental em inúmeros processos celulares.

2. OBJETIVOS

2.1. Objetivo geral

Esta pesquisa teve como objetivo principal avaliar a presença de fitoquímicos com potenciais antioxidantes presentes nas polpas e cascas de duas variedades de melão (*Cucumis melo* L.) comercializadas no Brasil, bem como adequar uma metodologia analítica por cromatografia líquida de alta eficiência para a quantificação da glutathiona reduzida (GSH).

2.2. Objetivos específicos

- ✓ Caracterizar as polpas e as cascas liofilizadas dos frutos de melão (*Cucumis melo* L.) através da composição centesimal e do perfil de aminoácidos;
- ✓ Quantificar o β -caroteno, a vitamina A, carotenoides totais, compostos fenólicos totais das polpas e das cascas liofilizadas;
- ✓ Avaliar a capacidade antioxidante através dos métodos DPPH e ORAC das polpas e das cascas liofilizadas;
- ✓ Definir uma técnica analítica instrumental adequada para quantificar a glutathiona reduzida (GSH) das polpas e das cascas liofilizadas.

3. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

3.1. Fruticultura Brasileira

O Brasil é um país de solo e clima favoráveis para o cultivo e adaptação de uma grande variedade de frutas. Várias frutas tropicais como tangerina, caqui, manga, goiaba, melancia, melão, são consideradas por muitos brasileiros como frutas nativas. De acordo com Silva & Tassara, (2005) a maioria das frutas cultivadas no Brasil foi introduzida e adaptada no país pelos europeus durante o período da colonização do Brasil e pelos escravos africanos.

Deste modo muitas frutas foram difundidas no Brasil e adaptadas em diferentes regiões do país, com características de qualidade e quantidade, tanto em termos de industrialização como para exportação. Segundo Prado (2009) a participação do Brasil no comércio internacional de frutas iniciou após o século XVI. Desde então, a fruticultura brasileira vem sendo preparada para atuar competitivamente no mercado internacional, aumentando assim, sua participação na economia do País (BARRETO, 2011).

O avanço da exportação de frutas brasileiras pode ser atribuído à disponibilidade de técnicas e tecnologias de produção para o aprimoramento da qualidade, diversidade de frutas e o aumento da produtividade (SEBRAE, 2016). Além da extensão territorial do Brasil, posição geográfica e das condições de clima e solo privilegiadas (IBRAF, 2015).

Segundo a Organização das Nações Unidas para Alimentação e Agricultura (2012) os principais produtores mundiais de frutas em 2012 foram a China com 29,5% do total, Índia contribuiu com 9,4% e o Brasil produziu o equivalente a 5,3%.

Em 2013, o Brasil foi responsável pela produção de 43,6 milhões de toneladas de frutas e destinou aos clientes externos o equivalente a 713 mil toneladas, sendo que, em 2014 foram exportadas em torno de 197 mil toneladas de melão (SEBRAE, 2015). O Journal GGN (2014) reportou que em 2013, as frutas mais exportadas foram a laranja (1,2 milhões de toneladas em sucos), melão (181 mil toneladas), manga (127 mil toneladas) e a banana (93 mil toneladas). Sendo que os maiores importadores são países como Holanda (275 mil toneladas), Reino Unido (126 mil toneladas) e Espanha (92,5 mil toneladas).

Crisóstomo & Aragão (2009) atribuíram o aumento da produtividade e de frutos comercialmente qualificados às condições favoráveis para o cultivo do

meloeiro, como alta temperatura e luminosidade combinadas à baixa umidade relativa. Nos últimos anos, o cenário para exportação do melão mostrou um expressivo crescimento. Sendo que, os principais estados produtores do fruto são Rio Grande do Norte e Ceará, juntos responsáveis por 82,5% da produção nacional (AGROSTAT/MAPA, 2015).

O Rio Grande do Norte fechou 2014, como o maior produtor de melão do Brasil, com a produção de 232.575 toneladas, conforme dados divulgados pelo Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística (IBGE, 2015). Visto que em 2014 a exportação de melão foi de 196.850 toneladas, o valor representa 85% de toda a safra produzida no Rio Grande do Norte. A expressiva exportação do melão tanto em volume como em faturamento foi confirmada pelo boletim de inteligência do SEBRAE de 2016. A agência nacional de notícias do SEBRAE publicou que até o mês de abril de 2017 o melão foi responsável pelo faturamento equivalente a US\$ 38,2 milhões.

3.2. Melão

O melão (*Cucumis melo* L.) pertencente à família Cucurbitaceae apresenta grande diversidade de variedades. Segundo Salunke & Desai, (1984) o melão (*Cucumis melo* L.) é derivado de formas nativas encontradas na Índia. Pedrosa, (1997) definiu meloeiros como plantas anuais, herbáceas, caule prostrado, que variam o número de hastes e ramificações em função da cultivar. Menezes (2001) relatou que os frutos em geral são verdes e quando maduros são amarelos, com variação de tamanho, forma e peso, a casca pode ser lisa, enrugada, tipo “rede” ou em forma de gomos.

O melão é um fruto que teve seu cultivo em escala comercial no Brasil iniciado na década de 60. A cultura estabeleceu-se em São Paulo e no Rio Grande do Sul, porém no início dos anos 80 com a adaptação climática, foi possível sua transferência para a Região Nordeste. Para Gomes Júnior et al. (2001) a alta produtividade e boa qualidade de frutos estão relacionadas as condições climáticas aliadas ao uso sistemático da irrigação. Mendonça et al. (2004) enfatizou que todos os anos são introduzidos novos híbridos para diversificar e melhorar a qualidade dos produtos oferecidos aos mercados interno e externo. Além disso, Melo et al. (2009) reportaram que devido a crescente demanda pelo produto no país e a busca por

produto com melhor qualidade, o cultivo de melão tem sido realizado principalmente em casa de vegetação, com esta prática a produção se torna mais segura e lucrativa devido a colheitas programadas.

Os frutos são constituídos de 90% de água e ricos em vitaminas A, C (LESTER, 1997) e E, além de sais minerais e propriedades antioxidantes (MELO et al. 2008). Comparado a outras frutas e hortaliças, é especialmente rico em elementos minerais; em 100 g de polpa de melão, podem ser encontradas 188 mg de potássio, 12 mg de fósforo e 13 mg de magnésio (COSTA, 2001). Ao melão são atribuídas propriedades medicinais, como calmante, refrescante e laxante e sua porção comestível representa 55% do fruto; também é considerado fontes significativas de outros nutrientes como açúcar, fibras e fitoquímicos (EMBRAPA, 2010). Foi recomendado por Millind & Kulwant (2011) no tratamento de distúrbios cardiovasculares, como diurético e vermífugo. Vouldoukis et al. (2004) relataram a obtenção de fortes evidências de que, no extrato de *Cucumis melo*, a atividade SOD (enzima superóxido dismutase) é essencial para promover as suas propriedades antioxidante e anti-inflamatória.

Existem sete variedades botânicas de interesse para a agricultura, porém, no Brasil são cultivados os tipos comerciais ou grupos varietais de duas variedades botânicas: *Cucumis melo* var. *inodorus* Naud. e *Cucumis melo* var. *cantalupensis* Naud. Os melões da variedade *inodorus* Naud. apresentam casca lisa ou levemente enrugada, coloração amarela, branca ou verde-escura. São resistentes às condições de transporte e apresentam extensa conservação pós-colheita. A polpa apresenta elevado teor de açúcares, pode ter coloração variando entre branca e verde-clara, e são geralmente maiores em relação aos aromáticos. A variedade *cantalupensis* Naud. apresenta melões com aroma e sabor acentuados, mais doces que os inodoros, porém de baixa conservação pós-colheita. Os frutos são de tamanho médio, com superfície reticulada, verrugosa ou escamosa, podem apresentar gomos (costelas), em geral a polpa apresenta coloração alaranjada ou salmão (ALVES et al., 2000; CRISÓSTOMO, 2004; ARAGÃO, 2011).

Nas Figuras de 1 a 6 estão representados alguns tipos de melões cultivados em escala comercial no Brasil (objetos deste estudo) das variedades *Cucumis melo* var. *inodorus* Naud e *Cucumis melo* var. *cantalupensis* Naud. As variedades *inodorus* (Figuras 1, 2, 3 e 4) e *cantalupensis* (Figuras 5 e 6) apresentam diferenças em relação às atividades respiratórias, pois a variedade *cantalupensis* exibe elevada

taxa respiratória, devendo ser colhida no ponto de maturação fisiológica e antes da elevação da concentração de etileno, já para a variedade *inodorus*, os melões são classificados como não climatérico por apresentarem baixa intensidade respiratória (SOBRINHO et al. 2008, BARRETO, 2011).



Melão Amarelo: Originário da Espanha e conhecido também como melão amarelo espanhol. É inodoro, com casca amarela e polpa branco-creme (MENEZES et al., 2000). Por ser o mais resistente ao manuseio e apresentar boa conservação pós-colheita, é o tipo mais cultivado em todo o Brasil (SENAR, 2007).

Figura 1. Melão Amarelo (Fonte: arquivo pessoal)



Melão Pele de Sapo: Também conhecido como melão verde espanhol, apresenta fruto de tamanho grande, com formato elíptico ou oval, casca com rugosidade longitudinal e coloração verde com manchas verde-escuras e amarelas, a polpa possui coloração creme-esverdeada (COSTA & SILVA, 2003). No mercado podem ser encontrados seus híbridos, que são os frutos arredondados e de menor tamanho (CRISÓSTOMO & ARAGÃO, 2009).

Figura 2. Melão Pele de Sapo (Verde) (Fonte: arquivo pessoal)

Melão Honeydew Orange: Originário do trópico do sudeste asiático, africano ou europeu com casca creme e internamente alaranjado. O fruto tem formato esférico ($\cong 1,4$ kg), polpa firme de sabor doce e suave (EMBRAPA, 2010).



Figura 3. Melão Honeydew Orange (Fonte: arquivo pessoal)



Melão Matisse (Snow Leopard): Fruto de aparência agradável apresenta casca de cor suave, branca ou de cor creme polvilhada com manchas verdes, a polpa é firme e branca com sabor muito doce.

Figura 4. Melão Matisse (*Snow Leopard*): (Fonte: arquivo pessoal)

Melão Gália: Fruto aromático, originário de Israel e com pouca reticulação. Os frutos apresentam forma esférica, antes da maturação a casca é verde e quando maduro torna-se amarela. Possuem peso médio entre 0,7 e 1,3 kg. A polpa é de coloração branca esverdeada (CRISÓSTOMO & ARAGÃO, 2009).



Figura 5. Melão Gália (Fonte: arquivo pessoal)

Melão Cantaloupe: Fruto aromático de origem americana é o mais produzido e conhecido no mundo. Fruto esférico e reticulação intensa, polpa de cor salmão e aroma agradável (MENEZES, et al., 2000).



Figura 6. Melão Cantaloupe (Fonte: arquivo pessoal)

Para comercialização, os melões são agrupados de acordo com as características da casca, cor, grau de maturação, presença ou ausência de suturas, cicatrizes, reticulação ou rendilhamento, formato do fruto e cor da polpa (CRISÓSTOMO & ARAÚJO, 2009).

Para o melão, o termo qualidade está relacionado a diferentes fatores, direcionando o seu foco dependendo do mercado consumidor. A maioria dos países utiliza os valores do conteúdo de sólidos solúveis como o principal critério para a aceitação. Alguns autores recomendam polpa com 9º Brix e firmeza 30 N (FILGUEIRAS et al., 2000).

Sobretudo, os melões apresentam propriedades antioxidantes naturais, uma vez que fazem parte da sua composição os carotenóides (YANO et al., 2005), os compostos fenólicos (KOLAYLI et al., 2010) e a glutathione (SAETRE & RABENSTEIN, 1978) considerada como um dos principais tióis envolvido em vários aspectos fisiológicos de plantas, incluindo o transporte de elétrons e a fosforilação durante a fotossíntese (DEMIRKOL et al., 2004; KUSMIEREK & BALD, 2008).

3.3. Carotenóides

Os carotenóides são compostos lipossolúveis, que formam um dos mais importantes grupos de pigmentos naturais difundidos na natureza, com mais de 750 membros sintetizados em todos os organismos fotossintéticos (bactérias, algas e plantas), bem como em algumas bactérias não-fotossintéticas e fungos, estes

compostos são responsáveis pela coloração amarela, laranja e vermelha em frutas, vegetais, folhas e algumas flores (SANDERS, 1994; OLIVER; PALOU; PONS, 1998; NISAR et al., 2015).

Estes compostos são divididos em duas classes principais com base em seus elementos estruturais: carotenos (Figura 7a) constituídos por carbono e hidrogênio (β -caroteno, α -caroteno e licopeno), e xantofilas (Figura 7b) constituídas por carbono, hidrogênio e oxigênio (luteína, criptoxantina, zeaxantina e fucoxantina) (JASWIR et al., 2011). São compostos bioativos com alta capacidade antioxidante, sendo o β -caroteno, licopeno, luteína e a zeaxantina os mais atuantes (MARINOVA et al., 2007).

Segundo Rodriguez-Amaya (2002) e Kiokias (2004), os carotenóides podem ser acíclicos ou cíclicos e apresentam em sua estrutura 40 átomos de carbono ligados por várias duplas ligações conjugadas que formam o cromóforo responsável pela absorção de luz na região do visível. São compostos lipossolúveis, portanto solúveis em solventes orgânicos como éter de petróleo, metanol, acetona e insolúveis em água, exceto quando formam complexos com proteínas (carotenoproteínas).

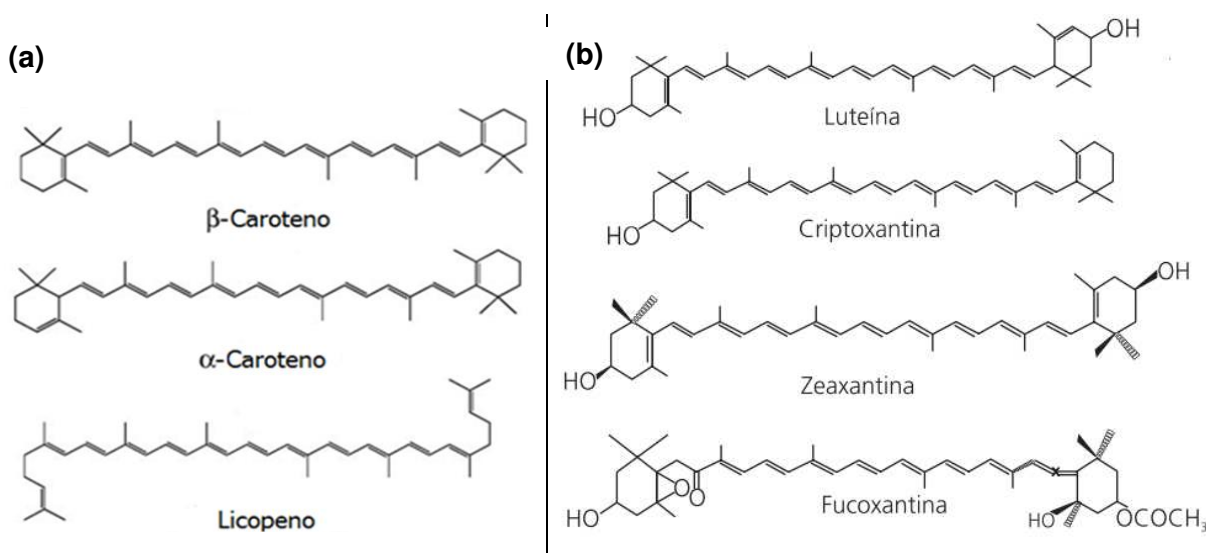


Figura 7. Estruturas moleculares de alguns carotenóides: (a) carotenos, (b) xantofilas.

Fonte: Adaptado de Ambrósio et al. (2006)

Os carotenóides são encontrados na natureza complexados com proteínas, como soluções oleosas ou dispersões coloidais e ocorrem tanto em meio lipídico quanto aquoso (RODRIGUEZ-AMAYA, 2002).

Apresentam atividade imunoestimuladora, inibindo a progressão de doenças (RODRIGUEZ-AMAYA, 1999). Dentre as funções biológicas atribuídas aos carotenóides, destacam-se a redução do risco de certos tipos de câncer; doenças cardiovasculares; degeneração macular e catarata (HANDELMAN, 2001; GERTH et al., 2004; TAPIERO et al., 2004; KRINSKY & JOHNSON, 2005; NISHINO et al., 2009; BOLHASSANI et al., 2014).

Alguns carotenóides como o β -caroteno, licopeno, zeaxantina e luteína, exercem funções antioxidantes em fases lipídicas, bloqueando os radicais livres que danificam as membranas lipoproteicas (SIES & STAHL, 1995). Segundo Olson (1999), os carotenóides sequestram o oxigênio *singlete*, removem os radicais peróxidos, modulam o metabolismo carcinogênico, inibem a proliferação celular, estimulam a comunicação entre células e elevam a resposta imune.

Segundo Ambrósio et al. (2006) dentre todos os carotenóides já relatados na literatura 50 deles são reconhecidos como precursores da vitamina A. Eles apresentam no mínimo um anel de β -ionona não substituído, com cadeia lateral poliênica constituída por 11 carbonos ou mais. Sendo que a maior atividade de vitamina A é atribuída ao β -caroteno (Figura 8).

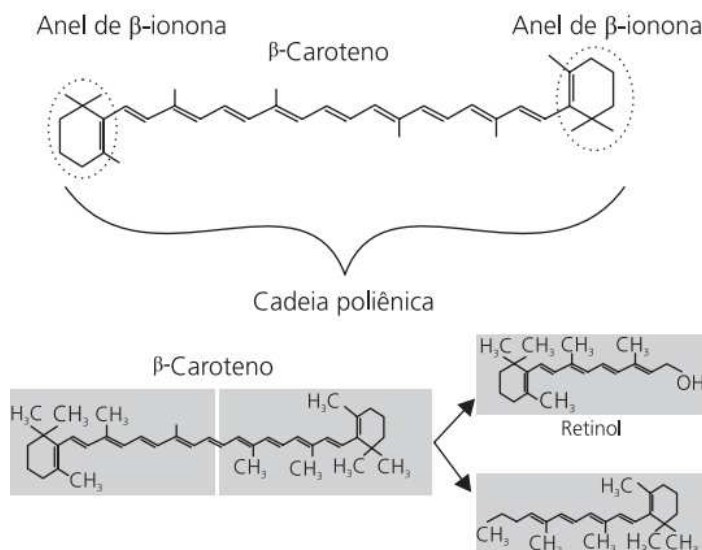


Figura 8. Estrutura química e clivagem do β -caroteno.

Fonte: Ambrósio et al. (2006)

Desta forma, os carotenóides (β -caroteno, α -caroteno e β -criptoxantina) são considerados promotores da saúde humana devido às funções fisiológicas exercidas no organismo, onde são clivados fornecendo precursores para a biossíntese de vitamina A (KRINSKY & JOHNSON, 2005; KADIAN & GARG, 2012; BOLHASSANI et al., 2014). Entretanto, Cazzonelli (2011) cita a influência do estado de vitamina A do indivíduo na conversão dos carotenóides da pró-vitamina A para a vitamina A. Segundo o autor, embora o mecanismo regulador ainda não esteja claro em humanos, a clivagem dos carotenóides da pró-vitamina A parece ser inibida quando a vitamina A está em altas concentrações.

Estudo realizado por McNulty et al. (2007) demonstra que carotenóides apolares, licopeno e β -caroteno, quando presentes desordenadamente afetam a ordem lipídica e a estrutura da bicamada em membrana, mostrando um potente efeito pró-oxidante com consequente aumento nos níveis de hidroperóxido lipídico.

Na literatura são encontrados vários estudos relacionados à presença de carotenóides em frutas e vegetais (ROBINSON & DECKER-WALTERS, 1999; RODRIGUEZ-AMAYA, 2002; MARINOVA et al., 2007). Dentre estas frutas, estão os melões, o tipo cantaloupe apresenta na polpa carotenóides que podem contribuir com teor de vitamina A até 113 vezes maior em relação aos melões amarelos (ROBINSON; DECKER-WALTERS, 1999).

No estudo de Yano et al. (2005) na quantificação de carotenóides em frutas *in natura* e processadas no Japão, os autores consideraram o melão como uma excelente fonte de carotenóides principalmente β -caroteno, onde foi encontrado 6,086 mg 100 g⁻¹ e 0,043 mg 100 g⁻¹ nas polpas dos melões vermelho e amarelo, respectivamente. Os mesmos autores encontraram no melão vermelho o α -caroteno (0,051 mg 100 g⁻¹) e δ -caroteno (0,092 mg 100 g⁻¹), além da β -criptoxantina (0,048 mg 100 g⁻¹) licopeno (0,095 mg 100 g⁻¹) e fitoeno (0,207 mg 100 g⁻¹) e no melão amarelo a luteína (0,051 mg 100 g⁻¹).

Laur & Tian (2011) estudaram conteúdo de pró-vitamina A nos melões cantaloupe e honeydew oriundos da Califórnia, Honduras, Guatemala e México e encontraram teores de β -caroteno de 2448 e 3138 μ g 100 g⁻¹ para duas variedades americanas do melão cantaloupe, 3633 e 3861 μ g 100 g⁻¹ para uma variedade proveniente de Honduras e outra da Guatemala, respectivamente, e valores de luteína de 12,7; 17,3; 7,2 e 13,5 μ g 100 g⁻¹ para os mesmos melões, respectivamente. Para quatro variedades americanas do melão honeydew encontraram teores de β -caroteno variando de 109,1 a 124,1 μ g 100 g⁻¹ e de luteína de 10,6 a 28,9 μ g 100 g⁻¹. Uma variedade hondurenha apresentou teores de beta caroteno e luteína de 99,0 e 13,7 μ g 100 g⁻¹, respectivamente. A variedade mexicana apresentou valores para β - caroteno e luteína de 172,9 e 32,6 μ g 100 g⁻¹, respectivamente.

Os resultados de carotenóides obtidos evidenciaram uma ampla faixa de variação entre as variedades estudadas. Conduro et al. (2012), atribuíram estas variações dos teores de carotenóides aos diferentes tipos de solo, tempos de colheita e região do cultivo. Os mesmos autores relataram que os melões cultivados na Itália apresentaram β -caroteno variando entre 6,25-117,69 mg kg⁻¹, α -caroteno entre 5,70-11,15 mg kg⁻¹, δ -caroteno entre 9,91-16,12 mg kg⁻¹, luteína variando de não detectado a 13,66 mg kg⁻¹ e fitoeno entre 6,22- 7,77 mg kg⁻¹.

Apesar do impacto positivo exercido pelos carotenóides encontrados em melões, eles não são os únicos responsáveis pela promoção de efeitos benéficos ao organismo, os quais possivelmente são potencializados pela presença dos compostos fenólicos. Em estudo sobre pigmentos acumulados em cascas de diferentes genótipos de melão durante o desenvolvimento da fruta, Tadmor et al. (2010) descobriram que a cor da casca de melão é baseada em diferentes combinações de clorofila, carotenoides (principalmente β -caroteno) e do flavonoide

nanrigerina chalcone (pigmento amarelo) de acordo com a cultivar e que as proporções desses pigmentos sofrem alteração durante a maturação da fruta.

3.4. Compostos Fenólicos

O estudo realizado por Granato et al. (2016) na base de dados *ScienceDirect* com os termos “flavonoides”, “compostos fenólicos” e “atividade antioxidante” de 1997 a 2016, revelou o interesse contínuo dos cientistas pela busca do conhecimento sobre os mecanismos pelos quais os compostos fenólicos exercem suas propriedades funcionais em seres humanos. De acordo com pesquisadores, os compostos fenólicos são metabólitos secundários presentes em plantas e estão amplamente distribuídos no reino vegetal. Atualmente são conhecidas mais de 8.000 estruturas, cujas origens orgânicas estão ligadas ao caminho metabólico do ácido chiquímico e ao metabolismo dos fenil propanóides (DREOSTI, 2000; SALDANHA, 2005).

O termo “ácidos fenólicos”, em geral, descreve os fenóis que possuem um ácido carboxílico funcional. Entretanto, quando se trata de metabólitos de plantas, refere-se a um grupo distinto de ácidos orgânicos, os quais são subdivididos em outros dois grupos devido às características das estruturas carbônicas: os hidroxicinâmicos e os hidroxibenzóicos. Embora o esqueleto básico seja o mesmo, a variedade desses compostos deve-se aos números e posições das hidroxilas no anel aromático (ROBBINS, 2002), incluindo seus grupos funcionais (CARVALHO; GOSMANN; SCHENKEL, 2007).

Dentro do grupo dos fenólicos estão presentes moléculas simples tais como os ácidos fenólicos, e até compostos altamente polimerizados, como os taninos (Tabela 1). No grupo dos polifenóis destacam-se os flavonóides, os ácidos fenólicos, e os taninos (BROINIZI et al., 2007).

Tabela 1. Classe de compostos fenólicos em plantas

Classe	Estrutura
Fenólicos simples, benzoquinonas	C_6
Ácidos hidroxibenzóicos	C_6-C_1
Acetofenol, ácidos fenilacéticos	C_6-C_2
Ácidos hidroxicinâmicos, fenilpropanóides	C_6-C_3
Nafitoquinonas	C_6-C_4
Xantonas	$C_6-C_1-C_6$
Estilbenos, antoquinonas	$C_6-C_2-C_6$
Flavonóides, isoflavonóides	$C_6-C_3-C_6$
Lignanas, neolignanas	$(C_6-C_3)_2$
Biflavonóides	$(C_6-C_3-C_6)_2$
Ligninas	$(C_6-C_3)_n$
Taninos condensados	$(C_6-C_3-C_6)_n$

Fonte: Adaptado por Angelo & Jorge, (2007).

De acordo com Bobbio & Bobbio, (2001) os flavonóides constituem três grupos importantes de pigmentos: Grupo 1: azul e vermelho das antocianinas. Grupo 2: amarelo das antoxantinas. Grupo 3: incolores, resultantes da condensação de duas ou mais moléculas de agliconas das antocianinas (leucoantocianidinas ou proantocianidinas).

Segundo Manach et al. (2004), os ácidos hidroxicinâmicos podem ser encontrados em todas as partes da fruta, sendo que a parte externa é o local de maior concentração, porém os níveis diminuem em função do aumento do grau de maturação. Os mesmos autores reportaram que o ácido clorogênico está presente em alta concentração no café, já o ácido ferúlico aparece em cereais e grãos, e o ácido cafeico é o ácido fenólico mais abundante encontrado em frutas. Porém os métodos utilizados para a quantificação destes compostos ainda oferecem uma margem de incerteza analítica. Alguns autores relataram que a coloração permite a determinação da concentração das substâncias redutoras que, não necessariamente, são de natureza fenólica (HUANG et al., 2005; OLIVEIRA et al., 2010, GRANATO et al., 2016).

Desta forma, substâncias interferentes podem superestimar conteúdo de fenólicos totais (OLIVEIRA et al., 2009), açúcares redutores, ácido ascórbico e

desidroascórbico (SANCHEZ-RANGEL et al., 2013), aminas aromáticas, dióxido de enxofre, ácido ascórbico, Cu (I), Fe (II) (MAGALHÃES et al., 2008), bisulfito de sódio, alguns metais de transição.

Chen et al. (2015) estudaram o efeito da alcalinização na estabilidade de fenóis como um possível interferente na quantificação de fenólicos totais. Alguns estudos propuseram estratégias analíticas como um método único para quantificação de compostos fenólicos totais e ácido ascórbico (SANCHEZ-RANGEL et al., 2013) e purificação parcial dos extratos fenólicos por extração em fase sólida – SPE (ISABELLE et al., 2010; SANCHEZ-RANGEL et al., 2013).

Porém, o Folin-Ciocalteu é ainda o método mais utilizado para quantificação de fenólicos totais. O reagente Folin-Ciocalteu consiste na mistura dos ácidos fosfomolibdídico e fosfotúngstico, onde o molibdênio se encontra no estado de oxidação (VI) apresentando a coloração amarela do complexo ($\text{Na}_2\text{MoO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$) que em meio básico e na presença de agentes redutores (compostos fenólicos) ocorre a reação de oxirredução entre o ânion fenolato e o reagente de Folin, com a formação do complexo molibdênio-tungstênio de coloração azul $[(\text{PMoW}_{11}\text{O}_4)^4]$, devido à mudança do estado de oxidação dos metais (V) (SINGLETON et al., 1999).

Além da complexidade analítica, as variações quantitativas e qualitativas na composição desses constituintes em frutas, as quais são consideradas as principais fontes de polifenóis, podem variar em função de fatores intrínsecos (cultivar, variedade, estágio de maturação) e extrínsecos (condições climáticas e edáficas). Consequentemente, a eficácia da ação antioxidante depende da concentração destes fitoquímicos no alimento (REYNERSTON et al., 2008, MELO et al., 2008).

Os fenólicos totais foram quantificados em 62 frutas por Fu et al. (2011), dentre estas frutas estava o melão Cantaloupe que apresentou 31,50 mg EAG 100 g⁻¹ para o conteúdo de fenólicos totais, 0,53 mg 100 g⁻¹ de ácido gálico e 0,59 mg 100 g⁻¹ de ácido clorogênico.

Em outro estudo desenvolvido na Turquia por Kolayli et al. (2010), com diferentes cultivares de melão, os pesquisadores observaram conteúdos de fenólicos totais variando de 0,092 a 0,115 g GAE 100 g⁻¹ de polpa fresca. Os ácidos fenólicos encontrados foram o ácido gálico (1,34 a 2,23 mg 100 g⁻¹), ácido clorogênico (0,90 a 2,29 mg 100 g⁻¹), ácido vanílico (6,36 a 7,83 mg 100 g⁻¹), ácido cafeico (1,37 a 2,04 mg 100 g⁻¹), ácido ferúlico (2,91 a 3,72 mg 100 g⁻¹), ácido p-cumárico (3,07 a 4,16 mg 100 g⁻¹), ácido benzoico (5,55 a 30,06 mg 100 g⁻¹), ácido abcísico (8,35 a 15,39

mg 100 g⁻¹), ácido cinâmico (2,99 a 6,85 mg 100 g⁻¹). Já os flavonoides encontrados foram a quercetina (2,26 mg 100 g⁻¹), epicatequina (3,71 mg 100 g⁻¹) e rutina (10,75 a 12,73 mg 100 g⁻¹). De acordo com Chun et al. (2003) a presença destes compostos fenólicos em frutos e hortaliças é muito importante, pois são capazes de conferir efeitos benéficos ao organismo pela eliminação de radicais livres. Na Figura 9, estão apresentadas as estruturas moleculares de alguns compostos fenólicos encontrados em melões, os quais são reconhecidos como antioxidantes naturais.

Pereira et al. (2012) reportaram que a capacidade antioxidante desses compostos pode ser atribuída ao poder redutor do grupo hidroxila do anel aromático, o qual reduz as espécies reativas, permitindo que os compostos fenólicos reajam neutralizando, sequestrando radicais livres e quelando metais de transição. Para Brewer et al. (2011) os flavonóides com múltiplos grupos hidroxilas são antioxidantes mais eficazes em relação àqueles que possui somente um grupo hidroxila.

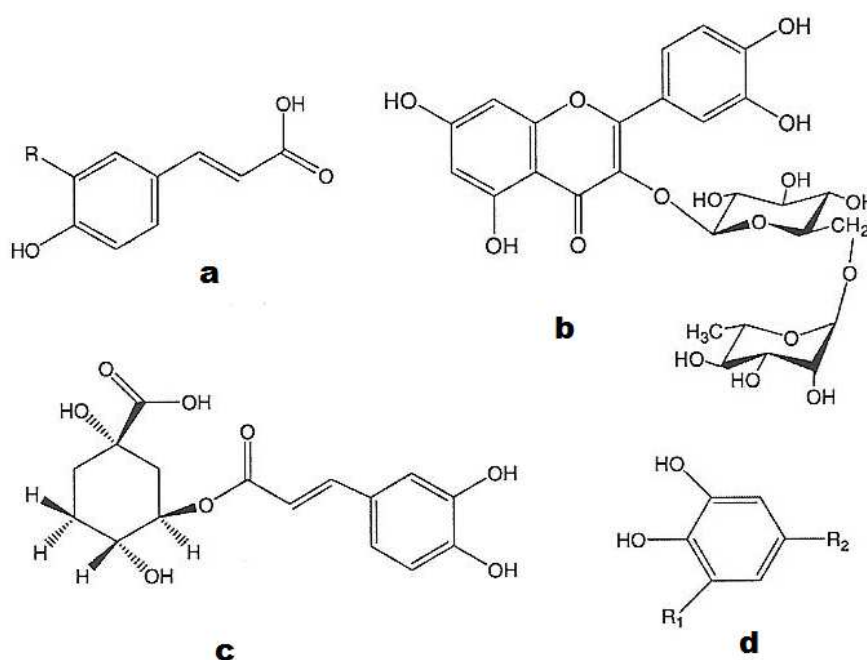


Figura 9. Estruturas moleculares: **(a)** ácido ferúlico (R = -OCH₃) ou ácido cafeico (R = -OH), **(b)** rutina, **(c)** ácido clorogênico, **(d)** ácido gálico.

Fonte: CHU et al. (2008)

A substituição de hidroxilas no anel aromático por grupos metoxilas altera o potencial redox, afetando assim, a capacidade de eliminação de radicais dos flavonoides (PIETTA, 2000; SEERAM & NAIR, 2002).

Portanto, os compostos com atividade antioxidante atuam de forma a retardar ou prevenir a oxidação de substratos oxidáveis (PISOSCHI et al., 2009) e evitam o aumento de danos oxidativos através da neutralização de radicais livres ou impedem a atuação das espécies reativas (BARBOSA et al., 2010; DEL RÉ & JORGE, 2012). Para Moo-Huchin et al. (2015) a ingestão de frutas e vegetais fornece ao organismo humano inúmeras substâncias com propriedades antioxidantes.

3.5. Antioxidantes

Os antioxidantes são substâncias que além das características estruturais devem apresentar pelo menos uma das três propriedades descritas a seguir: supressão da formação de radicais livres (seja por quelação de metais ou por inibição de enzimas geradoras de radicais livres); eliminação ou inativação de radicais livres com formação de um produto estável; ou participação em processos de reparo de danos oxidativos (BOURNE & RICE-EVANS, 1999; RIBEIRO, 2005).

Os compostos com atividades antioxidantes podem estar naturalmente presentes em frutas e vegetais, como por exemplo, as vitaminas C e E, carotenóides e compostos fenólicos, os quais exercem efeitos protetores ao organismo (VALMORBIDA & VITOLO, 2014; MOREIRA et al., 2015).

São considerados sistemas antioxidantes de defesa primária, os complexos antioxidantes, como vitamina E (α -tocoferol), vitamina A (β -caroteno, pró-vitamina A) e vitamina C (ácido ascórbico), selênio, glutathione, ácido úrico e enzimas antioxidantes varredoras de radicais livres de oxigênio como superóxido dismutase, catalase e peroxidase, enquanto que o sistema antioxidante de defesa secundária inclui as enzimas lipolíticas, fosfolipases, enzimas proteolíticas, enzimas reparadoras de DNA, e muitas outras enzimas (ANDRADE et al., 2005; ZIMMERMANN & KIRSTEN, 2008).

Para melhor compreensão do grupo de substâncias que abrangem os antioxidantes é muito importante observar a Figura 10, obtida do artigo de revisão elaborado por Venkat Ratnam et al. (2006) intitulado *“Role of antioxidants in prophylaxis and therapy: A pharmaceutical perspective”*, onde os autores tiveram o cuidado em esquematizar de maneira clara e objetiva a classificação dos antioxidantes, apontando os antioxidantes não enzimáticos como ácido úrico, vitamina E, glutathione e CoQ10, os quais são sintetizados no organismo humano e

também podem ser provenientes de fontes alimentares. Já os polifenóis são antioxidantes exclusivamente encontrados em alimentos de origem vegetal.

A capacidade de um composto inibir a degradação oxidativa é denominada como atividade antioxidante (DAVID & BARREIROS, 2006). De acordo com a origem e a localização, os antioxidantes são classificados como dietéticos (exógenos), intracelulares e extracelulares. São classificados também quanto aos mecanismos de ação, em antioxidantes de prevenção, varredores e de reparo (KOURY & DONANGELO, 2003).

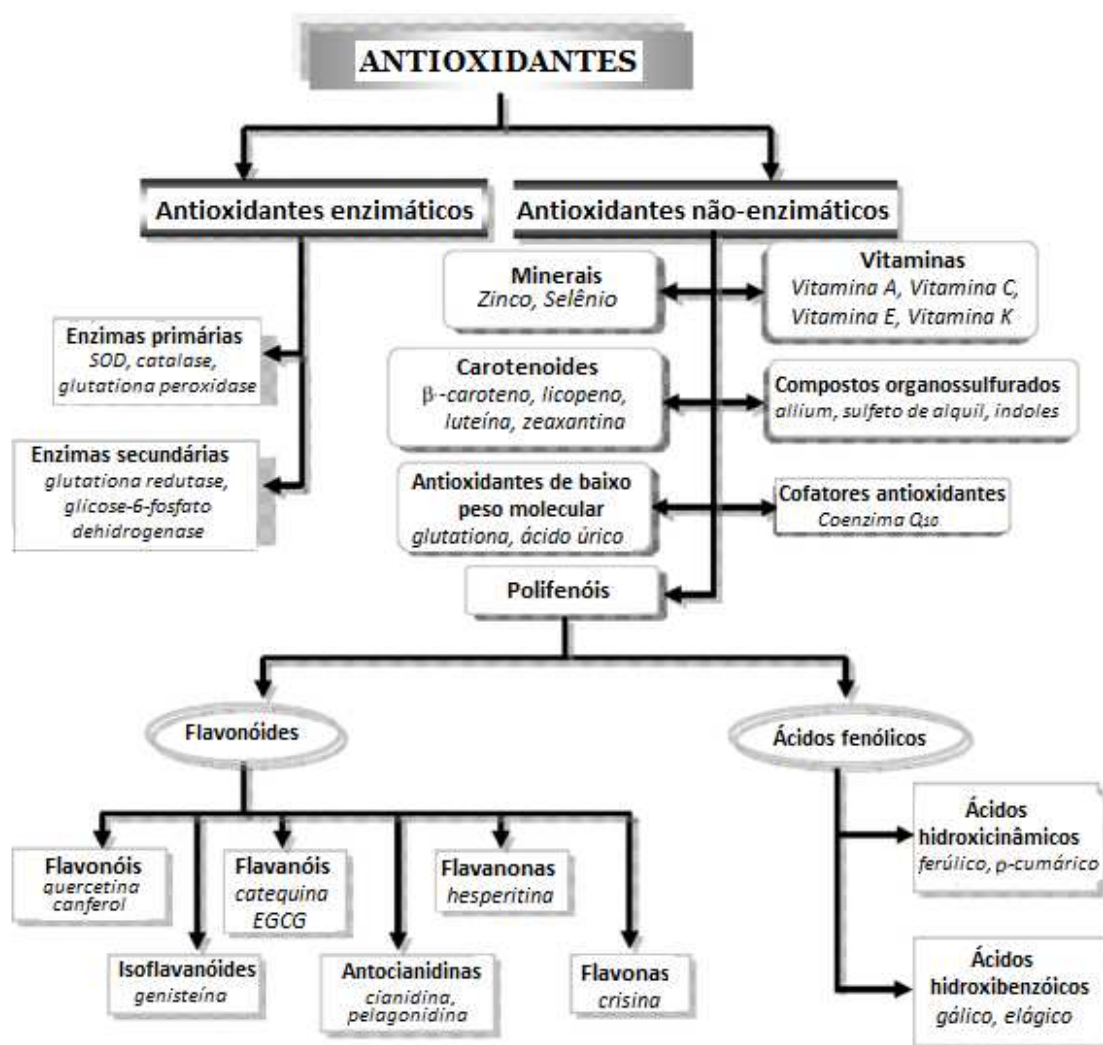


Figura 10. Classificação de antioxidantes. Alguns antioxidantes não enzimáticos sintetizados pelo corpo humano e derivados de fontes alimentares.

Fonte: Adaptado de Venkat Ratnam et al. (2006)

Os antioxidantes obtidos através da dieta e/ou produzidos pelo organismo são de extrema importância, pois a eles são atribuídas propriedades extraordinárias como proteção contra os radicais livres. Segundo David & Barreiros (2006), os radicais livres são produzidos naturalmente ou por alguma disfunção biológica, já que a oxidação é parte fundamental da vida aeróbia. Além disso, os radicais livres desempenham funções relevantes no organismo, atuando como mediadores para a transferência de elétrons em várias reações bioquímicas como a regulação do crescimento celular, a fagocitose, dentre outras, porém quando produzidos em excesso, apresentam efeitos prejudiciais ao organismo (SINGH et al., 2004; VASCONCELOS et al., 2007).

Segundo Sun et al. (2002) os radicais livres causam danos as células e favorecem o desenvolvimento de doenças degenerativas.

Os radicais livres são espécies instáveis que apresentam um ou mais elétrons não pareados, caracterizados em espécies reativas de oxigênio (EROs): superóxido (O_2^-), peróxido (O_2^{2-}), radical hidroxila ($OH^\bullet$), peroxila ($ROO^\bullet$), hidroperóxido (ROOH), peróxido de hidrogênio (H_2O_2), alcóxila (RO^-); espécies reativas de nitrogênio (ERNs): óxido nítrico (NO^-), dióxido nítrico (NO_2^-), peroxinitrito ($ONOO^-$), ácido nitroso (HNO_2); espécies reativas de cloro (ERCIs): ácido hipocloroso (HClO), dentre outras, que em excesso, favorecem reações rápidas e destrutivas ocasionando danos estruturais celulares que podem levar a vários distúrbios de saúde (COOPER et al., 2002; JOHANSEN et al., 2005; VASCONCELOS et al., 2007).

A diminuição dos antioxidantes endógenos ou o aumento da geração de espécies oxidantes origina um desequilíbrio entre a criação e a remoção dos radicais livres no organismo, ocasionando um estado pró-oxidante com consequente lesões oxidativas em macromoléculas e estruturas celulares, acarretando a morte celular (GUTTERIDGE, 1993; ROVER JR et al., 2001; HALLIWELL & GUTTERIDGE, 2007). Adicionalmente, as espécies reativas podem promover mutações no DNA, alterar a expressão gênica, induzir a apoptose celular, degradação de proteínas e a peroxidação lipídica (FU et al., 2011).

Os compostos antioxidantes são de extrema importância para o organismo, porém sua atividade não pode ser diretamente determinada, mas medida por meio dos efeitos que os antioxidantes proporcionam no controle da extensão da oxidação. Segundo BECKER et al. (2004), diversificados métodos são utilizados para a avaliação da capacidade antioxidante.

3.6. Métodos para Determinação da Capacidade Antioxidante

Constantemente são desenvolvidas novas técnicas para determinação da atividade antioxidante, ou seja, técnicas capazes de mensurar a capacidade antioxidante de substâncias e/ou misturas potencialmente importantes para a prevenção de doenças crônico-degenerativas (ALVES et al., 2010; MAGALHÃES et al., 2008; LOPEZ-ALARCON & DENICOLA, 2012).

Devido à diversidade química de antioxidantes alimentícios e às diferenças de polaridade entre os mesmos, a determinação da atividade antioxidante total não é considerada apropriada para expressar a contribuição individual de cada componente. Porém, a determinação do poder antioxidante total é considerada mais expressiva na avaliação dos efeitos benéficos dos antioxidantes sobre a saúde (prevenção do estresse oxidativo, doenças relacionadas), pois reflete a ação sinérgica entre os mesmos (GHISELLI et al., 2000; CELIK et al., 2010).

Os métodos utilizados para avaliação da capacidade antioxidante apresentam particularidades que acarretam em resultados, os quais são dependentes do ensaio aplicado, deste modo em especial quando não se conhece o produto a ser analisado é importante utilizar mais de um método para que o estudo seja conclusivo da melhor maneira possível. Dentro deste contexto, serão discutidos quatro tipos de reações, que de acordo com Huang et al. (2005) estes podem ser classificados conforme a reação envolvida no processo: reação de transferência de elétron, reação de transferência de átomos de hidrogênio, reação química e por reação enzimática.

Reação de transferência de elétron tem como princípio a transferência de elétrons de um composto antioxidante para um oxidante, como acontece no método DPPH (2,2-difenil-1-picril-hidrazil), onde a reação é observada pela mudança da cor púrpura para a amarela quando o DPPH• é reduzido à DPPH-H e quantificado pelo decréscimo da absorbância medida em espectrofotômetro (BRAND-WILLIAMS et al., 1995; HUANG et al., 2005; ROESLER et al., 2007).

Reação de transferência de átomos de hidrogênio: este ensaio conhecido como ORAC (*Oxygen-Radical Absorbancy Capacity*) avalia a atividade antioxidante através da inibição da oxidação, induzida pelo radical peroxil pelo AAPH (2,2'-azobis-(2-amidinopropane dihydrochloride)) por transferência de átomos de hidrogênio, a reação é mensurada pelo decaimento da fluorescência com a adição

da substância antioxidante no decorrer do tempo (PRIOR et al., 2003; DÁVALOS et al., 2004; BARRETO, 2011).

Reação química: consiste na complexação do ferro em meio ácido, este método é denominado de FRAP (*Ferric Reducing Antioxidant Power*) e está baseado na capacidade dos fenóis em reduzir o Fe^{3+} em Fe^{2+} (PELLEGRINI et al., 2003; SZAMOSI et al., 2007; WOLBANG et al., 2010; KOLAYLI et al., 2010). Durante a reação é formado um complexo férrico-tripiridiltiazina (Fe^{3+} -TPTZ), o qual é reduzido ao complexo ferroso (Fe^{2+} -TPTZ), a reação é verificada pela coloração azul que aumenta de intensidade de acordo com a presença de compostos antioxidantes (BENZIE & STRAIN, 1996; PÉREZ-JIMÉNEZ & SAURA-CALIXTO, 2006).

Reação química e reação enzimática: o ensaio de TEAC (MILLER et al., 1993; RE et al., 1999) utiliza o reagente ABTS•+ (*2,2'-azinobis-(3-ethylbenzothiazoline-6-sulfonic acid)*) e consiste em monitorar o decaimento do cátion-radical ABTS produzido pela oxidação do ABTS•+, ao adicioná-lo na amostra contendo antioxidantes (LEONG & SHUI, 2002; PRADO, 2009). O ABTS•+ pode ser gerado por reação química do ABTS com persulfato de potássio ou dióxido de manganês, ou por reação enzimática com as proteínas metamioglobina e hemoglobina (PRIOR; WU; SCHAICH, 2005).

Apak et al. (2013) reportaram que apesar do uso extensivo de ensaios antioxidantes *in vitro* para distinguir quais antioxidantes e alimentos são mais eficazes, as pesquisas revelam que os ensaios ainda apresentam muitas limitações tanto conceituais como técnicas.

Sendo que, um dos principais conceitos de limitação destes ensaios *in vitro* é que eles não evidenciam de fato o que ocorre *in vivo*. Forman et al. (2014) estão de acordo com as críticas aos sistemas analíticos utilizados pelos pesquisadores, de que geralmente os radicais livres têm sido produzidos para estudos *in vitro* a taxas muito maiores do que seriam observadas em condições fisiológicas ou patológicas reais.

Além dos métodos é importante considerar as matrizes alimentares diversificadas onde estão pautados muitos estudos científicos. Nos últimos anos, o melão tornou-se foco importante de investigação, como foi apresentado no estudo de Ismail et al. (2010) com o melão tipo Cantaloupe, os extratos metanólicos feitos com diferentes partes da fruta liofilizada apresentaram valores de EC_{50} para a polpa

de 11,9 mg mL⁻¹ e para a casca de 9,58 mg mL⁻¹, revelando que o melão também possui atividade antioxidante.

No ano seguinte Barreto (2011) estudou vários híbridos de meloeiro cultivados no Ceará e Rio Grande do Norte, e encontrou pelo método ORAC para os melões Cantaloupe valores que variaram de 485,17 a 725,69 µM ET 100 g⁻¹, para os melões Amarelo a variação foi de 324,93 a 498,31 µM ET 100 g⁻¹. O melão Orange Honeydew apresentou valor de 292,36 µM ET 100g⁻¹. Os melões Pele de Sapo apresentaram valores de 358,55 a 434,20 µM ET 100g⁻¹ e os melões Gália teores de 307,59 a 555,07 µM ET 100g⁻¹, mostrando haver diferenças expressivas entre os híbridos estudados.

Portanto, os sistemas de transporte que exportam produtos de desintoxicação são fundamentais na defesa antioxidante (SIES, 2007). Desta forma, um grupo de substâncias presente em baixas concentrações em relação ao substrato oxidável é capaz de retardar ou prevenir a oxidação (HALLIWELL & GUTTERIDGE, 2007) através de sua atividade antioxidante como, por exemplo, a glutatona.

3.7. Glutaciona

A glutatona, um tripeptídeo (L-γ-glutamil-L-cistenil-glicina) formado pelos aminoácidos ácido glutâmico, cisteína e glicina, está amplamente distribuído em tecidos animais, plantas e micro-organismos. A glutatona pode ser encontrada intracelularmente em nível de milimolar, essencialmente em todos os organismos aeróbicos (HÖEHR et al., 2001). Foi descoberta em 1888 por J. de Rey-Pailhade extraída de células de fermento e chamada de *philothion*, palavra grega que significa sulfurado (LI et al., 2004), sendo isolada e renomeada como dipeptídeo pela primeira vez por Hopkins em 1921 a partir de leveduras, fígado e músculo de animais, e foi reconhecida como um tripeptídeo somente em 1930 pelos mesmos pesquisadores (LIU et al., 1999; LI et al., 2004).

A molécula de GSH é sintetizada (Figura 11) no interior das células de acordo com a biodisponibilidade dos aminoácidos, em especial da cisteína, por ser o aminoácido de menor concentração presente nas proteínas alimentares, este aminoácido em sua estrutura apresenta uma molécula de enxofre, designado como grupo tiol (HÖEHR et al., 2001).

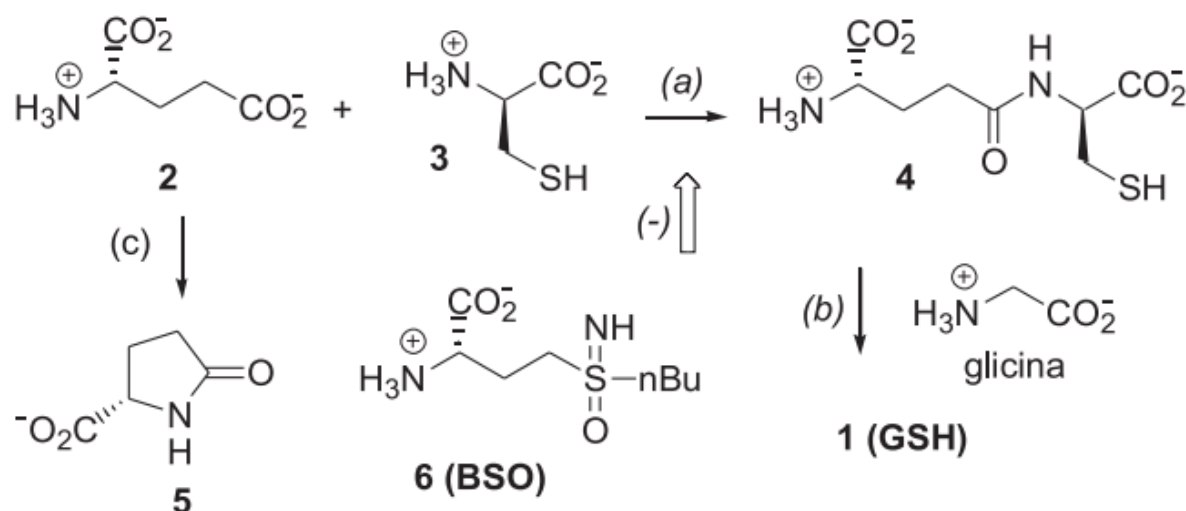


Figura 11. Biossíntese da glutatona. Enzimas envolvidas: **(a)** γ- glutamilcisteína sintetase e **(b)** glutatona sintetase; **(c)** γ- glutamilciclotransferase, e butionina sulfoximina (BSO), inibidor da biossíntese da glutatona. Os aminoácidos: **(2)** ácido glutâmico, **(3)** cisteína, e o dipeptídeo: **(4)** γ-L-glutamil-L-cisteína, e o derivado de aminoácido: **(5)** 5-oxoprolina.

Fonte: Ameida & Fátima (2008)

Segundo Freire & Santos, (1990) a glutatona (L-γ-glutamil-L-cistenil-glicina) é o mais abundante tiol não protéico encontrado em células animais. A molécula usualmente representada por GSH enquanto o persulfureto resultante da oxidação do grupo tiol é denominado por GSSG. Os tióis são tipos de mercaptanos caracterizados por possuírem grupo funcional sulfidríla. Os biotióis são os mais importantes antioxidantes os quais protegem as células dos danos oxidativos. A glutatona é um dos biotióis mais estudados, e um dos principais tióis encontrados e envolvidos em vários processos fisiológicos de plantas, incluindo o transporte de elétrons e a fosforilação durante a fotossíntese (DEMIRKOL et al., 2004; KUSMIEREK & BALD, 2008).

Nas células, a glutatona pode ser encontrada na forma livre ou ligada a proteínas (Figura 12a), permitindo a formação de proteínas glutationiladas. No organismo são encontradas na forma reduzida GSH (Figura 12b) e oxidada GSSG (Figura 12c) atuando direta ou indiretamente em muitos processos biológicos importantes (MARZAL, 2005; CORRÊA, 2013). A glutatona (GSH) é a única molécula que participa de aspectos essenciais da homeostase celular (VULCANO; SORACI; TAPIA, 2013).

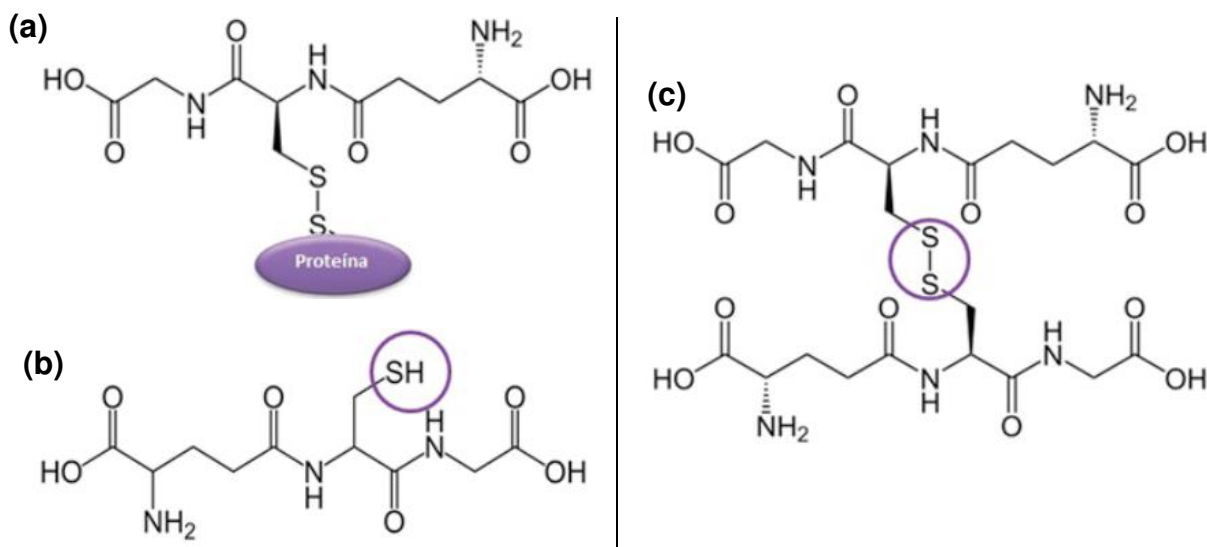


Figura 12. Fórmulas estruturais: **(a)** glutathione unida à proteína, **(b)** glutathione reduzida (GSH), seu grupo ativo é o grupo SH do resíduo de cisteína, **(c)** glutathione oxidada (GSSG), formado por duas moléculas de GSH unidas por uma ligação dissulfeto.

Fonte: Vulcano; Soraci; Tapia (2013).

A glutathione reduzida (GSH) é o mais abundante tiol (-SH) intracelular não protéico de baixa massa molecular; sua concentração está em torno de 2 mM nos eritrócitos humanos e superior a 10 mM nos hepatócitos, e participam efetivamente em várias reações biológicas. A GSH mantém os grupos tióis (-SH) das proteínas, reduz ligações dissulfetos (-S-S-) induzidas pelo estresse oxidativo, neutraliza os radicais livres e detoxifica eletrófilos. Por isso, a concentração intracelular da GSH é um indicador da capacidade da célula em manter sua homeostase, através da neutralização de agentes oxidantes (CHAKRAVARTHI et al., 2006; HUBER et al., 2008; YILMAZ et al., 2009; NETO, 2010).

A glutathione age como agente neutralizador, desativando radicais livres, mantendo ao mesmo tempo a funcionalidade de antioxidantes exógenos, como por exemplo, as vitaminas C e E. Esta propriedade só é possível de ser realizada devido ao regimento de ciclos enzimáticos que as células desenvolveram contra espécies reativas de oxigênio (EROs), onde é essencial a presença de enzimas como glutathione peroxidase (GPx) e glutathione redutase (GR) (PENNINSCKX, 1999).

Os mecanismos catalíticos de funcionamento da GPx envolvem seus principais substratos, glutathione e peróxido de hidrogênio. Portanto, a atividade enzimática de GPx é um dos meios de controle do organismo dos níveis de peróxido

de hidrogênio e hidroperóxidos lipídicos, oriundos do ataque de espécies radiculares. Outra enzima que age conjuntamente com a glutathione peroxidase é a enzima glutathione reductase. Esta enzima não age diretamente na remoção de espécies radiculares, porém, é responsável pela regeneração da glutathione à sua forma reduzida (GSH) na presença de nicotinamida adenina dinucleotídeo fosfato (NADPH), sua função é impedir a paralisação do ciclo metabólico da glutathione (HÖEHR et al., 2001; HUBER et al., 2008).

Além da enzima GPx, que atua no sistema de defesa contra o aumento de radicais livres, a glutathione, superóxido-dismutase (SOD), catalase e vitamina E atuam como eliminadores de radicais livres antes que estes causem lesões. Na outra linha de defesa que tem a função de reparar as lesões ocorridas, na qual tem a GR atuando, também atuam o ácido ascórbico e a glutathione peroxidase, entre outros (FERREIRA & MATSUBARA, 1997; CAN et al., 2010).

A proporção glutathione reduzida/glutathione oxidada (GSH/GSSG) é um parâmetro importante para avaliar o status do estresse oxidativo de sistemas biológicos (BALLATORI, 2009; MONOSTOKI et al., 2009). Além disso, as alterações na razão (GSH/GSSG) têm sido associadas à apoptose, aumento do câncer, replicação do HIV e doenças cardiovasculares (SERRU et al., 2001; DEMIRKOL et al., 2004; CIRCU & AW, 2008; PARK, 2010).

A glutathione, também participa em outros processos metabólicos no organismo, intervindo em diversos processos como síntese de proteínas e ácidos nucléicos, transporte de aminoácidos, manutenção da forma ativa de algumas enzimas (FORMAN, 2009; PARK, 2010), além de estabelecer reações de conjugação com vários tipos de compostos para detoxificação do organismo, como por exemplo, os xenobióticos (DICKINSON & FORMAN, 2002; CIRCU & AW, 2008; PARK, 2010).

De acordo com Rollini & Manzoni, (2006) a GSH pode ser considerada uma molécula de defesa versátil e importante, que apresenta potencial para ser utilizada em tratamentos de alguns tipos de doenças e retardar o envelhecimento celular.

A glutathione desempenha papel decisivo na manutenção de um equilíbrio normal entre espécies oxidantes e antioxidantes, regulando muitas funções vitais das células, tais como síntese e reparação de DNA, síntese de proteínas, ativação e regulação de enzimas (TOWNSEND et al., 2003). Diante destes benefícios, torna-se

evidente a importância em estabelecer um método analítico adequado para quantificação da glutathione.

3.8. Métodos Analíticos para Análise da Glutathione

No decorrer dos anos, vários métodos foram introduzidos para determinação da glutathione com utilização de técnicas analíticas como espectrofotometria, cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE), cromatografia gasosa (GC), eletroforese capilar (CE) e técnicas de ressonância magnética nuclear (RMN) em amostras biológicas (AVI-DOR & LIPKIN 1958; SERRU et al., 2001; ROSSI et al., 2002; RELLÁN-ÁLVAREZ et al., 2006; YLMAZ et al., 2009), e em frutas e vegetais (DEMIRKOL et al., 2004; MENDOZA et al., 2009). Para a investigação de glutathione a técnica mais antiga encontrada na literatura foi a espectrofotometria reportada por Avi-Dor & Lipkin, (1958) e a mais recente foi por cromatografia líquida de alta eficiência com ionização por eletrospray massa/massa (CLAE/ESI-MS/MS) (YU et al., 2015).

Há 60 anos os pesquisadores buscam novas técnicas para aperfeiçoar os métodos para quantificação da glutathione, utilizando métodos: espectrofotométrico, bioluminescência, eletroforese capilar, cromatografia gasosa, eletroquímico e cromatografia de alta eficiência (CLAE) com o uso de vários tipos de detectores. Na sequência será apresentado um breve relato de algumas técnicas analíticas empregadas para quantificação da glutathione, tanto para materiais biológicos como para matrizes alimentares.

3.8.1. Método Espectrofotométrico

Há várias décadas os pesquisadores buscam por métodos para quantificação da glutathione. Avi-Dor & Lipkin (1958) desenvolveram um método espectrofotométrico onde o efeito do borato permitiu a determinação de glutathione e compostos relacionados. Uma das técnicas espectrofotométricas mais conhecida e disseminada no meio científico para determinação das concentrações de glutathione continua sendo o ensaio que utiliza o reagente de Ellman's (ELLMAN, 1959). O método consiste na oxidação dos grupos sulfidrilas livres da GSH pelo ácido 5,5'-ditio-bis-(2-nitrobenzóico) (DTNB), liberando estequiometricamente um mol do íon

tionitrobenzoato (TNB), um cromóforo amarelo com um máximo de absorção em comprimento de onda de 412nm (ELLMAN, 1959).

As técnicas enzimáticas apresentam alta especificidade, como acontece na reação de reciclagem enzimática no ensaio descoberto por Owens & Belcher (1965) e desenvolvido por Tietze (1969) com a utilização da enzima glutathiona redutase (GR), obtida de levedura, para oxidação da GSH, sendo que este método é considerado mais sensível em relação ao reagente de Ellman's.

Outro método enzimático com a utilização da enzima glutathiona S-transferase (GTS) e do reagente 1-cloro-4-dinitrobenzeno (CDNB), denominado como Método do Ponto Final, foi desenvolvido na década de 60 por Güntherberg & Rost (1966) para a determinação de GSSG em eritrócitos. Brigelius et al. (1983), utilizaram o método para quantificação da GSH em hepatócitos, os autores reportaram que o método é baseado no consumo de NADPH pela glutathiona redutase, provocando a redução da GSSG. Porém, quatro décadas após ter sido desenvolvido o Método do Ponto Final, Monostori et al. (2009) reportaram que o método apresentava baixa sensibilidade quando comparado ao ensaio baseado na ciclagem enzimática.

Raggi et al. (1991), propuseram um método espectrofotométrico para o controle da estabilidade de GSH e GSSG presentes em formulações farmacêuticas, baseado na reação colorimétrica dos mercaptanos com tetracloropaladato de amônio, que originam complexos solúveis (amarelo) com um máximo de absorção em comprimento de onda de 380 nm.

3.8.2. Método de Bioluminescência

O ensaio de bioluminescência de glutathiona reduzida foi desenvolvido por Romero & Mueller-Klieser (1998). O princípio bioquímico é baseado na quimiluminescência da enzima luciferase via flavina mononucleótido (FMN). A GSH é ligada ao sistema redox NADP/NADPH+H⁺ através de enzimas específicas (glutathiona redutase) e a acumulação de NADPH é determinada pela reação de bioluminescência da FMN e a enzima luciferase. O resultado é obtido através de uma correlação linear entre a intensidade de bioluminescência da reação luciferase e a quantidade de GSH.

Os mesmos autores afirmaram que este tipo de processo enzimático oferece flexibilidade, desde que cada substância possa ser ligada quantitativamente ao

sistema redox. O ensaio oferece vantagens como o uso de pequena quantidade de amostra líquida e pode ser usado em uma ampla faixa de concentrações de GSH. Além disso, ele pode ser adequado, entre outras aplicações, para o uso em microtituladores. As desvantagens do ensaio é que a glutathiona oxidada (GSSG) não pode ser quantificada, e o método é semi-quantitativo.

3.8.3. Método de Eletroforese Capilar (CE)

A eletroforese capilar (CE) foi introduzida como técnica de separação analítica bastante eficiente e que utiliza pequenos volumes de reagentes para a análise de espécies carregadas. Piccoli et al. (1994) primeiro descreveram um método eletroforético capilar com detecção UV que permitia a determinação simultânea de glutathiona reduzida e oxidada em hemácias.

Jin et al. (2000) estabeleceram um método de zona eletroforética capilar com detecção eletroquímica (CE-CZE) para determinação de glutathiona (GSH) em eritrócitos. Neste ensaio, a célula inteira é injetada numa separação capilar, sem derivatização e sem a necessidade do manuseamento do fluido intracelular. A desvantagem deste método, em comparação com os outros métodos eletroforéticos capilares, é a impossibilidade em quantificar a glutathiona oxidada.

3.8.4. Método de Cromatografia Acoplada a Espectrometria de Massa (GC-MS)

Na cromatografia gasosa acoplada a espectrometria de massa (GC-MS) para análise de glutathiona em amostras biológicas (sangue e plasma), descrito por Capitan et al. (1999), a glutathiona foi reduzida com ditioneitol, desproteinizada com ácido sulfosalicílico, derivatizada com cloroformato de etila e extraída com éter etílico para a quantificação dos derivatizados do N,S-etoxicarbonil metil éster de glutathiona e outros tióis.

Yu et al. (2015) recomendaram o método para avaliação de GSH e, possivelmente, outros importantes tióis endógenos de baixo peso molecular, com a utilização da cromatografia líquida e ionização por eletrospray massa/massa (CLAE/ESI-MS/MS). A glutathiona foi derivatizada com monobromobimano para formar um conjugado de GSH. O derivado de GSH foi quimicamente estável contra a auto-oxidação, o método apresentou alta seletividade e sensibilidade.

A maior desvantagem deste método está relacionada ao custo elevado dos detectores MS/MS, em contrapartida, a elevada sensibilidade, especificidade e a co-determinação de outros tióis, são as características positivas.

3.8.5. Método Eletroquímico

Compagnone et al. (1994) possivelmente tenham sido os primeiros pesquisadores a utilizarem um sensor potenciométrico com eletrodo íon seletivo, estabelecendo a reação entre GSH e 1-fluoro-2,4-dinitrobenzeno catalisado pela enzima Glutathione Transferase. A determinação da GSH e da GSSG foi baseada na oxidação direta do grupo tiol em diferentes eletrodos convencionais, como eletrodo de ouro (LACOURSE & OWENS, 1995), carbono vítreo (MANNA et al., 1999), grafite pirolítico (MOORE & BANKS, 2004) que foram os mais estudados.

A oxidação direta de GSH em eletrodos de carbono foi reportada por Zhang et al. (2002), neste trabalho o eletrodo de carbono foi colocado no final da coluna capilar de cromatografia líquida. As técnicas eletroquímicas, em geral, são apropriadas para determinação de compostos tiólicos, devido a flexibilidade da química redox que caracteriza a maioria dos compostos orgânicos de enxofre. Além da simplicidade no procedimento, tempo de resposta rápida, o avanço da micro-engenharia e de sistemas de eletrodos descartáveis favorecem o uso de dispositivos eletroquímicos. Os eletrodos quimicamente modificados têm atraído considerável interesse nas últimas duas décadas devido à facilidade em manipular a arquitetura molecular do corpo do eletrodo e sua superfície (MARZAL, 2005).

3.8.6. Método de Cromatografia Líquida de Alta Eficiência (CLAE)

A Cromatografia Líquida de Alta Eficiência (CLAE) pode ser considerada uma das técnicas preferidas para determinação de glutathione e tióis relacionados a amostras biológicas. A determinação simultânea de GSH, GSSG e outros tióis em um único ensaio são possíveis desde que a coluna, derivatizante e o sistema de detecção sejam adequados. As técnicas de CLAE são rápidas e reprodutíveis (HUBER et al., 2008; GAWLIK et al., 2014).

Na sequência serão abordados alguns aspectos sobre os métodos de CLAE para determinação de glutatona com o uso dos detectores: UV-Vis, eletroquímico, massa e fluorimétrico.

3.8.6.1. Cromatografia Líquida de Alta Eficiência com Detector de UV-Vis

Reeve & Kuhlenkamp (1980) descreveram pela primeira vez a análise por cromatografia de alta eficiência e detecção ultravioleta para a determinação da glutatona com derivatização pré-coluna utilizando o reagente de Ellman's, ácido 5,5'-ditio-bis-(2-nitrobenzóico), DTNB. Katrusiak et al. (2001) modificaram o método original, permitindo a determinação simultânea da glutatona e outras formas de tióis relacionadas. Ainda, os compostos oxidados também podem ser detectados por pré-tratamento das amostras biológicas com ditioneitol.

O método de CLAE com detecção por UV usando pré-coluna de derivatização com reagente de Sander's (2,4-dinitrofluorobenzeno) reportado por Reed et al. (1980) para a determinação simultânea de tióis e dissulfetos foi modificado por Yoshida, 1996 que usou ácido metafosfórico para desproteínização e ácido iodoacético para bloquear o grupo SH, inibindo o produto da auto-oxidação de GSH à GSSG.

3.8.6.2. Cromatografia Líquida de Alta Eficiência com Detector Eletroquímico (CLAE-ECD)

A CLAE com detecção eletroquímica representa uma ferramenta importante para análise de compostos, tais como tióis e dissulfetos, incluindo glutatona. Anteriormente eram utilizados eletrodos de mercúrio para a determinação da glutatona e outros tióis (RABENSTEIN & SAETRE, 1977). Este método foi posteriormente simplificado por Allison et al. (1984) e ampliado pelo desenvolvimento de uma dupla amálgama de ouro-mercúrio em fina camada de eletrodo, para a determinação simultânea da glutatona e da cisteína, e seus respectivos dissulfetos.

Richie & Lang (1987) modificaram este método possibilitando a determinação de uma ampla variedade de tióis e dissulfetos biologicamente importantes em amostras biológicas. Estes tióis foram quantificados pelo detector eletroquímico com

a dupla dos eletrodos ouro-mercúrio em série. Hiraku et al. (2002) relataram um ensaio HPLC-ECD para glutathiona reduzida e oxidada e tióis relacionados. Estudos como o descrito por Marzal (2005) e mais recente por Corrêa (2013), detalharam o uso de eletrodos porosos de grafite para monitoramento das concentrações de GSH e GSSG.

3.8.6.3. Cromatografia Líquida de Alta Eficiência com Detector de Espectrometria de Massa (CLAE-MS).

A CLAE-MS foi utilizada para quantificação da GSH em amostras de fígado de rato, e também permitiu o ensaio de GSSG, com limites de detecção de 0,2 pmol para GSH e 2 pmol para GSSG (NORRIS et al., 2001).

No método de CLAE-ESI-MS descrito por Camera et al. (2001) após a derivatização com N-etilmaleimida (NEM), para impedimento da auto-oxidação de GSH, a adição de ácido tiossalícílico como padrão interno e extração com acetonitrila, as amostras foram injetadas com eluição isocrática e detecção pelo sistema ESI-MS. O alto custo do equipamento é a principal desvantagem deste método.

3.8.6.4. Cromatografia Líquida de Alta Eficiência com Detector de Fluorescência (CLAE-FD).

Cohn & Lyle (1966) descreveram um ensaio fluorimétrico para a glutathiona reduzida, que pode ser utilizado para amostras biológicas, os autores basearam-se no princípio da reação entre o-ftaldialdeído (OPA) e aminoácidos para o estabelecimento do procedimento analítico. Porém, Hissin & Hilf (1976) modificaram o método, para que o mesmo determinasse simultaneamente a glutathiona reduzida e oxidada, onde a reação entre o grupo tiol livre da glutathiona e o-ftaldialdeído resultou em derivado altamente fluorescente. Os autores utilizaram reagente apropriado para bloquear os grupos sulfidrílicos livres, tratando a amostra com N-etilmaleimida (NEM) e quantificação da GSSG, extrações idênticas foram efetuadas para amostras de sangue e outros tecidos, porém concluíram que a maior desvantagem estava relacionada a baixa especificidade, devido a presença de interferentes como aminoácidos e outros tióis.

Cereser et al. (2001) também modificaram o método baseado no reagente OPA para a determinação de glutathiona total e reduzida introduzindo ácido metafosfórico como agente desproteinizante em amostras de eritrócitos e fibroblastos cultivados, e obtiveram sucesso na quantificação na glutathiona reduzida e total em níveis de femtomol.

Além do OPA existem outros reagentes fluoróforos, os quais são empregados para a determinação de glutathiona, por exemplo, o monobromobimano (BrB) específico para grupos funcionais tiólicos, este reagente em particular forma aduto BrB-tiol com alta fluorescência (SVARDAL et al., 1990; IVANOV et al., 2001; PASTORE et al., 2001), e o amônio 7-fluoro-2,1,3-benzoxadiazol-4-sulfonato (SBD-F) (IMAIL et al., 1983).

Imail et al. (1983) descreveram pela primeira vez o uso de amônio 7-fluoro-2,1,3-benzoxadiazol-4-sulfonato (SBD-F) para as determinações de glutathiona e outros tióis. Este método foi aperfeiçoado por Oe et al. (1998). Outra modificação do método SBD-F foi descrita por Abukhalaf et al. (2002). Os métodos baseados em SBD-F são sensíveis e específicos. As desvantagens incluem a baixa reatividade do fluoróforo SBD-F, o longo tempo de reação e temperatura relativamente alta (60°C).

Os estudos aqui relatados reforçam a importância e a necessidade de instrumentações analíticas avançadas e reagentes específicos para quantificação de glutathiona.

3.8.7. Métodos analíticos definidos neste estudo para Determinação de Glutathiona

A seleção de um método analítico adequado exige cuidados importantes durante o procedimento do ensaio, como isolar e/ou concentrar o analito em níveis adequados, além de garantir o grau de limpeza da amostra. Portanto, o pré-tratamento da amostra deve ser considerado, como por exemplo, a amostragem, preparação da amostra, remoção de interferentes (HUBER et al., 2008). Em relação às duas formas de glutathiona reduzida (GSH) e oxidada (GSSG), foi evidenciada a importância em quantificar a GSH presente em matrizes alimentares, devido sua atuação como agente antioxidante. Para este estudo, foi realizada uma revisão da literatura (Tabela 2) de métodos indicados para quantificação da GSH.

Tabela 2. Métodos descritos na literatura para a determinação da GSH.

Técnicas Analíticas	Concentração Encontrada	Produtos	Autores
CLAE-ED	0,165 mmol/L	Tomate 1	SAETRE, R.; RABENSTEIN, D.L., 1978
	0,066 mmol/L	Tomate 2	
	0,136 mmol/L	Tomate 3	
	0,022 mmol/L	Suco de tomate	
	0,116 mmol/L	Laranja 1	
	0,076 mmol/L	Laranja 2	
	0,185 mmol/L	Uvas verdes	
	0,017 mmol/L	Limão	
	0,225 mmol/L	Kiwi	
	0,069 mmol/L	Melão Cantaloupe	
CLAE-UV ($\lambda=280$ nm)	1,74 $\mu\text{mol/g}$	Folhas de espinafre	BUWALDA et. al., 1988
CLAE-UV ($\lambda=280$ nm)	40,2 $\mu\text{g/g}$	Raízes de tomate	BOLTER et. al., 1993
	93,6 $\mu\text{g/g}$	Raízes de melão	
CLAE-FD	245 nmol/g	Folhas de papoula	STROHM et. al., 1995
CLAE-ED	89 $\mu\text{mol}/100\text{g}$	Couve bruxelas	MILLS et al., 1997
	49 $\mu\text{mol}/100\text{g}$	Aspargo	
	65 $\mu\text{mol}/100\text{g}$	Brócolis (flor)	
	45 $\mu\text{mol}/100\text{g}$	Repolho	
	9 $\mu\text{mol}/100\text{g}$	Milho	
	12 $\mu\text{mol}/100\text{g}$	Espinafre	
	4,7 $\mu\text{mol}/100\text{g}$	Tomate	
	19 $\mu\text{mol}/100\text{g}$	Couve-flor	
	22 $\mu\text{mol}/100\text{g}$	Brócolis (caule)	
	5,7 $\mu\text{mol}/100\text{g}$	Abóbora amarela	
	10 $\mu\text{mol}/100\text{g}$	Quiabo	
	8 $\mu\text{mol}/100\text{g}$	Abobrinha	
	14 $\mu\text{mol}/100\text{g}$	Batata doce	
	5,4 $\mu\text{mol}/100\text{g}$	Nabo	
	1,4 $\mu\text{mol}/100\text{g}$	Nabiça	
	0,40 $\mu\text{mol}/100\text{g}$	Mostarda	
	11 $\mu\text{mol}/100\text{g}$	Rabanete	
	4,1 $\mu\text{mol}/100\text{g}$	Pimentão	
	2,5 $\mu\text{mol}/100\text{g}$	Feijão verde	
	11 $\mu\text{mol}/100\text{g}$	Tomate	
	9,4 $\mu\text{mol}/100\text{g}$	Beterraba	
	ND	Couve	
	5,5 $\mu\text{mol}/100\text{g}$	Repolho	
	4,1 $\mu\text{mol}/100\text{g}$	Cebola	
	5,6 $\mu\text{mol}/100\text{g}$	Cenoura	
	0,52 $\mu\text{mol}/100\text{g}$	Beringela	
	2,7 $\mu\text{mol}/100\text{g}$	Pepino	
	0,29 $\mu\text{mol}/100\text{g}$	Aipo	

Tabela 2. Continuação

CLAE-FD	349 nmol/g	Aspargo	DEMIRKOL et al., 2004
	313 nmol/g	Espinafre	
	4 nmol/g	Brócolis, Cenoura	
	6 nmol/g	Couve-flor	
	47 nmol/g	Abóbora verde	
	39 nmol/g	Abóbora amarela	
	123 nmol/g	Pepino	
	17nmol/g	Salsa	
	64nmol/g	Tomate	
	42nmol/g	Pimenta vermelha	
	8 nmol/g	Pimenta verde	
	5 nmol/g	Batata, Laranja, Limão	
	230 nmol/g	Feijão verde	
	339 nmol/g	Abacate	
	13 nmol/g	Pomelo (<i>Grapefruit</i>)	
	59 nmol/g	Manga	
	136 nmol/g	Mamão Papaya	
CLAE-ESI/MS (TOF)	ND	Banana	RELLÁN-ÁLVAREZ et al., 2006
	39 nmol/g	Morango	
CLAE-UV ($\lambda=330$ nm)	43-707 nmol/g	Extrato de plantas	SCHOTT et al., 2007
CLAE-UV ($\lambda=348$ nm)	1,91 mmol/L	Eritrócitos humanos	KUSMIEREK, K. & BALD, E., 2008
	22-192 μ mol/L	Sucos de laranja	
	2-61 μ mol/L	Sucos de pomelo	YLMAZ et al., 2009
CLAE-DAD ($\lambda=215$ nm)	2,12 μ mol/g	Tecidos codorna (fígado)	
	2,65 μ mol/g	Tecidos codorna (músculo)	
	2,59 μ mol/g	Tecidos rato (fígado)	
	0,73 μ mol/g	Tecidos rato (rim)	
	0,76 μ mol/g	Tecidos rato (eritrócitos)	
	0,41 μ mol/g	Tecidos rato (pulmão)	
CZE-UV ($\lambda=200$ nm)	20,6 μ mol/L	Sangue humano	SERRU et al., 2001
CZE-UV ($\lambda=185$ nm)	65,0 nmol/g	Brotos de tomate expostos ao cobre	MENDOZA et al., 2009
	44,9 nmol/g	Raízes de tomate expostas ao cobre	

CLAE: Cromatografia Líquida de Alta Eficiência, **UV:** Detector de UV, **ED:** Detector Eletroquímico, **FD:** Detector de Fluorescência, **DAD:** Detector de Arranjo de Diodos, **CZE:** Eletroforese Capilar de Zona, ND: não detectado

Dos métodos encontrados na literatura, alguns métodos analíticos e bioanalíticos foram utilizados como base para realização deste trabalho, com

adequação da metodologia para quantificação da GSH nas variedades de melões. A técnica selecionada para o estudo foi a cromatografia líquida de alta eficiência com o uso dos detectores de arranjo de diodos (CLAE-DAD) e de fluorescência (CLAE-FD).

O desenvolvimento de um método analítico envolve muitas etapas importantes para comprovar a eficiência analítica na quantificação do analito desejado, como por exemplo, a validação, que não foi contemplada neste estudo em totalidade, porém, alguns parâmetros foram efetuados como ensaios de recuperação, linearidade, limites de quantificação e detecção, e foi avaliada também a estabilidade da GSH dos melões liofilizados e armazenados à temperatura ($\cong 5^{\circ}\text{C}$) de refrigeração durante 19 meses.

4. MATERIAL E MÉTODOS

4.1. Amostras

Os frutos dos melões (*Cucumis melo* L., var. *inodorus*): Pele de Sapo (Verde), Amarelo, Honeydew (Orange), Matisse (Snow Leopard) e melões (*Cucumis melo* L., var. *cantalupensis*): Gália e Cantaloupe com selo de procedência da cidade de Mossoró, Rio Grande do Norte foram obtidos em um mercado local Central de Abastecimento de Campinas (CEASA) - São Paulo. A aquisição de 4 a 6 kg de cada tipo de fruto (de acordo com o tamanho do fruto) ocorreu em outubro de 2014, e em abril de 2016.

4.2. Reagentes

Foram utilizados padrões analíticos de glutatona na forma reduzida (GSH) e na forma oxidada (GSSG) (Fluka); padrão analítico de beta caroteno (Sigma-Aldrich); padrões analíticos dos aminoácidos (Pierce Biotechnology); padrão interno ácido α -aminobutírico (Sigma-Aldrich); derivatizantes fenilisotiocianato (PITC) (Pierce Biotechnology), orto-ftalaldeído (OPA) grau HPLC, (Sigma-Aldrich), 5,5'-dithio-ácido(bis-2-nitrobenzóico) (DTNB) (Sigma-Aldrich); reagentes (EDTA) Ácido etilenediaminotetra-acético (Merck), Folin-Ciocalteu (Merck), ácido gálico (Sigma-Aldrich), 2,2-difenil-1-picrilhidrazil (DPPH) (Sigma-Aldrich), ditiotreitól (DTT) (Sigma-Aldrich), fluoresceína sódica (Sigma-Aldrich), 2,2'-azobis(2-amidinopropano) dihidrocloreto (AAPP) (Sigma-Aldrich), 6-hidroxi-2,5,7,8-tetrametilcloro-2-ácido carboxílico (Trolox) (Sigma-Aldrich); solventes grau HPLC: acetonitrila (J.T.Baker), metanol (Merck), acetato de etila (Merck), trietilamina (Sigma-Aldrich); ácidos P.A. (Synth): clorídrico, fosfórico, acético, sulfúrico, tricloroacético, trifluoracético, ácido sulfossalicílico (Dinâmica), ácido monoiodoacético (Sigma-Aldrich); solventes P. A. (Synth) álcool etílico absoluto, acetona, éter de petróleo, peróxido de hidrogênio, soluções tampão pH 4,0 e 7,0 utilizadas na calibração do pH-metro; reagentes P. A. (Synth) fosfato de sódio dibásico, fosfato monobásico de potássio, carbonato de sódio, hidróxido de sódio, hidróxido de potássio, acetato de sódio (J.T.Baker); enzimas (Novozymes) termamyl, alcalase, amiloglucosidase. Água de grau analítico tipo I com resistividade 18 Ω (Milli-Q, Millipore, Belfor, USA).

4.3. Tratamento e armazenamento dos frutos de melão

Os frutos foram levados ao Laboratório de Química do Centro de Ciência e Qualidade de Alimentos - CCQA do Instituto de Tecnologia de Alimentos - ITAL, Campinas - SP, onde foram selecionados, lavados em água corrente, sanitizados com hipoclorito de sódio (NaClO) 200 mg L⁻¹ por 15 minutos, e enxaguados em solução de 5 mg L⁻¹. Para participar do estudo a polpa do melão deveria apresentar entre 8 e 11 °Brix (IAL, 2005) que foi mensurada logo após serem fatiadas para verificar o estágio de maturação, e as cascas foram trituradas em homogeneizador (Scientific Industrial Division, Robot Coupe, USA). Posteriormente as amostras foram congeladas e levadas ao liofilizador (Terroni, São Carlos, Brasil). Os produtos liofilizados foram armazenados em frascos protegidos contra incidência de luz e mantidos sob refrigeração ($\cong$ 5 °C) até o momento das análises.

4.4. Caracterização físico-química dos melões (casca e polpa)

4.4.1. Composição centesimal

A composição centesimal foi determinada seguindo os métodos preconizados pela *Association of Official Analytical Chemists* (AOAC, 2012) e pelas Normas Analíticas do Instituto Adolfo Lutz (IAL, 2005). Compreendem as técnicas analíticas: umidade e voláteis (met. 920.151), cinzas (met. 940.26), lipídios (met. 034 B), proteína (met. 920.152), fibra alimentar total (met. 985.29), fibra alimentar solúvel e insolúvel (met. 991.43), os carboidratos calculados por diferença e calorias calculadas de acordo com KALIL, (1975); PASSMORE et al. (1975); USDA, (1963). A análise de sólidos solúveis expressos em °Brix (met. 315) também foi efetuada (IAL, 2005).

4.4.2 Aminoácidos totais por derivatização pré-coluna

Para caracterização do melão foi efetuada a análise de aminoácidos, para efeito de comparação entre as variedades estudadas, além de verificar o valor real da proteína, já que frutas e vegetais podem apresentar em sua composição,

elevados teores de nitrogênio não protéico. A análise de aminoácidos totais foi realizada em coluna de fase reversa (reação pré-coluna com Fenilisotiocianato-PITC) em cromatógrafo líquido de alta eficiência (LC- 20 AT Prominence, Shimadzu, Kyoto, Japan) com detecção por UV (SPD-M20A) a 254 nm (WHITE et al. (1986); HAGEN et al. (1989). As áreas dos picos obtidos a partir da amostra de melão foram quantificadas em comparação com as de uma mistura padrão de aminoácidos ($2,5 \mu\text{mol mL}^{-1}$) e o resultado expresso em mg de aminoácido 100 g^{-1} amostra de melão liofilizada.

4.5. β -caroteno, Vitamina A e Carotenoides totais expressos como β -caroteno

O método baseia-se na extração dos carotenóides com acetona, partição em éter de petróleo, detecção e quantificação por CLAE-DAD para a análise de beta caroteno e leitura espectrofotométrica da absorbância para a análise de carotenoides totais (CARVALHO et al. 1992).

Em uma alíquota de 0,5000 g de amostra liofilizada pesada em balança analítica (Mettler Toledo, Greifensee, Switzerland) adicionou-se 50 mL de acetona, homogeneizou-se em desintegrador (homogeneizador Turatec, Marconi, Piracicaba, Brasil) por 1 minuto. Filtrou-se em funil de büchner com filtro qualitativo a vácuo, lavando-se o resíduo com acetona para retirada do pigmento. Ao resíduo, repetiu-se o processo de homogeneização com 30 mL de acetona, seguido da filtração. Em funil de separação colocou-se 20 mL de éter de petróleo, transferiu-se alíquotas de 25 mL de amostra em acetona, lavando-se com água deionizada para remoção da acetona até toda transferência da amostra. Recolheu-se em balão volumétrico de 25 mL, avolumando-se com éter de petróleo. Transferiu-se alíquota de 1,0 mL para tubo, secando sob fluxo de nitrogênio. Suspendeu-se a amostra na fase móvel (1,0 mL) e homogeneizou-se em agitador de tubos (Vortex Basic II, Logen Scientific, Diadema, Brasil) por um minuto. Após filtrado em membrana de celulose regenerada de $0,45 \mu\text{m}$, o extrato foi injetado no cromatógrafo líquido (Infinity Quaternary LC 1260, munido Diode Array detector Agilent 1260 Infinity, Agilent Technologies, USA), $\lambda = 453 \text{ nm}$, coluna C18 $5 \mu\text{m}$ $125 \times 4,6\text{mm}$, fase móvel: Acetonitrila: Metanol: Acetato de etila: Trietilamina (72,95:20:07:0,05, v/v/v/v), vazão: $1,5 \text{ mL min}^{-1}$, volume injetado: $20 \mu\text{L}$. Utilizado padrão analítico de beta caroteno ($0,9 \mu\text{g mL}^{-1}$).

Os resultados foram expressos em $\text{mg } 100 \text{ g}^{-1}$ para o beta caroteno e unidade internacional (UI) 100 g^{-1} para a vitamina A. Fator de conversão para a vitamina A: 1 UI de Vitamina A = $1,7963 \mu\text{g}$ de all-trans- β -caroteno.

Para a análise de carotenoides efetuou-se leitura em espectrofotômetro (Varian Cary, Walnut Creeck, USA) do extrato em éter de petróleo a $\lambda = 453 \text{ nm}$ e expressou-se os resultados em mg de carotenoides totais expressos como β -caroteno por 100 g^{-1} de amostra. Coeficiente de absorção do β -caroteno: 2592.

4.6. Compostos fenólicos totais

A determinação dos compostos fenólicos totais foi realizada de acordo com o método de Folin Ciocalteau descrito por (KIM et al., 2003). Em $0,5000 \text{ g}$ de amostra liofilizada adicionou-se 8 mL de solução metanólica 80%, homogeneizou-se em desintegrador Turatec por 1 minuto, centrifugou-se (centrífuga MLW Eletronic, Heraeus, Western, Germany) a $2000 \times \text{g}$ por 10 minutos, recolhendo o sobrenadante em balão volumétrico de 25 mL .

Repetiu-se a extração mais duas vezes, de forma sequencial, adicionando ao resíduo 8 mL de metanol 80%. Juntou-se os extratos, aferindo-se o volume do balão.

A reação ocorreu misturando-se em balão volumétrico de 25 mL , $0,5 \text{ mL}$ de extrato, $9,5 \text{ mL}$ de água, 1 mL do reagente Folin Ciocalteau, incubando-se a mistura por 5 minutos. Após, adicionou-se 10 mL da solução de carbonato de sódio a 7% e avolumou-se com água. Foi homogeneizado por 20 segundos, e mantido no escuro em repouso à temperatura ambiente por 90 minutos.

A absorbância foi obtida a $\lambda = 760 \text{ nm}$ usando-se um espectrofotômetro Varian. A curva de calibração foi construída com padrão de ácido gálico ($50\text{-}300 \mu\text{g mL}^{-1}$) e os resultados foram expressos como mg de ácido gálico equivalente (GAE) por 100 g de amostra.

4.7. Atividade antioxidante

4.7.1. Método DPPH

A atividade antioxidante foi determinada através da capacidade do seqüestro do radical estável DPPH• (2,2-difenil-1-picrilhidrazil), de acordo com Brand-Willians et al. (1995). Utilizaram-se os extratos metanólicos obtidos da extração dos compostos fenólicos. Preparo da amostra para leitura espectrofotométrica: em tubos de ensaio, volumes do extrato (tubo 1 = 0, tubo 2 = 200, tubo 3 = 400, tubo 4 = 600, tubo 5 = 800, tubo 6 = 1000 μL) foram adicionados a volumes de metanol (1000, 800, 600, 400, 200, 0 μL), respectivamente nos tubos de 1 a 6, e 3 mL de solução DPPH ($2,6 \cdot 10^{-5} \text{ g mL}^{-1}$ em metanol).

Após homogeneização, os tubos foram mantidos em repouso no escuro à temperatura ambiente por 60 minutos. A absorbância foi obtida usando-se um espectrofotômetro Varian, $\lambda = 515 \text{ nm}$. Por meio da equação obtida na curva analítica de DPPH• ($1,2 \cdot 10^{-5} - 6 \cdot 10^{-5} \text{ g mL}^{-1}$), calculou-se a concentração molar de DPPH• em cada tubo. Considerou-se a concentração de DPPH• do tubo 1 (tubo sem antioxidante) como 100% e calculou-se a percentagem de DPPH• remanescente nos demais tubos. Construiu-se o gráfico % DPPH• remanescente (Y) x g amostra g^{-1} DPPH• (X) obtendo-se a equação da reta. Com essa equação, encontrou-se o valor de mg amostra mL^{-1} de extrato DPPH• necessário para reduzir 50% da concentração inicial de DPPH• (EC_{50}). O valor de ARP (atividade antioxidante ou poder antirradical (*antiradical power*) é igual a $1/\text{EC}_{50}$ (BRAND-WILLIANS et al., 1995).

4.7.2. Método ORAC

A atividade antioxidante foi determinada verificando a capacidade sequestradora da fração hidrofílica proporcional do antioxidante frente à formação de um radical peroxila induzido pelo AAPH [2,2'-azobis(2'-amidinopropano) dihidroclorato], onde o radical peroxila reage com a fluoresceína formando um produto não fluorescente (PRIOR et al., 2003; DÁVALOS et al., 2004).

A 10,00 mg de amostra (polpa e casca do melão liofilizado) adicionou-se 1000 μL de tampão fosfato de potássio 75 mmol L^{-1} pH 7,4, obtendo-se as soluções estoques na concentração 10 mg mL^{-1} (p/v), inicialmente agitadas no agitador Vortex

por 30 segundos, seguidas de agitação em ultrasson (Unique Ultrasonic Cleaner, Cientec, Piracicaba, Brasil) a 10°C durante 30 minutos ao abrigo da luz. Para a leitura, as amostras sofreram diluição obtendo-se concentração 2 mg mL⁻¹. A partir do padrão Trolox (Ácido 6-hidroxi-2,5,7,8-tetrametilcroman-2-carboxílico) 800 µmol L⁻¹, obteve-se a curva padrão do ensaio (25 – 600 µmol mL⁻¹), com diluições efetuadas em tampão fosfato de potássio 75 mmol L⁻¹, pH 7,4.

As reações ocorreram em microplacas de poliestireno, específicas para reações de fluorescência, contendo 96 compartimentos à temperatura constante de 37°C durante 80 minutos. Foi adicionado ao sistema de reação em cada poço da microplaca 20 µL de amostra (2 mg mL⁻¹), 120 µL de fluoresceína (3,78 mg mL⁻³) e 60 µL AAPH (12 mmol L⁻¹) também ressuspendido em tampão fosfato de potássio 75 mmol L⁻¹ pH 7,4, momentos antes do início da leitura da microplaca.

A intensidade de fluorescência nos comprimentos de onda de excitação = 485 nm e emissão = 520 nm foi verificada a cada ciclo de 60 segundos, durante 80 ciclos em leitor de microplacas NOVOstar (BMG Labtech®, Offenburg, Germany), acompanhado com o Software de análise de dados *MARS Data Analysis* versão 1.3 (BMG Labtech®, Offenburg, Germany).

As soluções padrões da curva, o branco da reação (tampão fosfato sem adição da amostra) e os padrões de referência sofreram o mesmo procedimento. A curva de decaimento da fluorescência ou AUC foi calculada através da fórmula:

$$AUC = 1 + f_1/f_0 + \dots f_i/f_0 + \dots f_{80}/f_0;$$

onde o f_0 é representado pela fluorescência obtida no tempo 0 e f_i a fluorescência obtida nos tempos intermediários entre 0 e 80 minutos. Calculou-se a área de perda de fluorescência da amostra subtraindo a área correspondente à do controle (branco) e os valores foram expressos em µmol equivalentes de Trolox g⁻¹ de amostra. A Figura 13 ilustra os layouts de uma microplaca utilizada para a medição ORAC no leitor de microplacas NOVOstar.

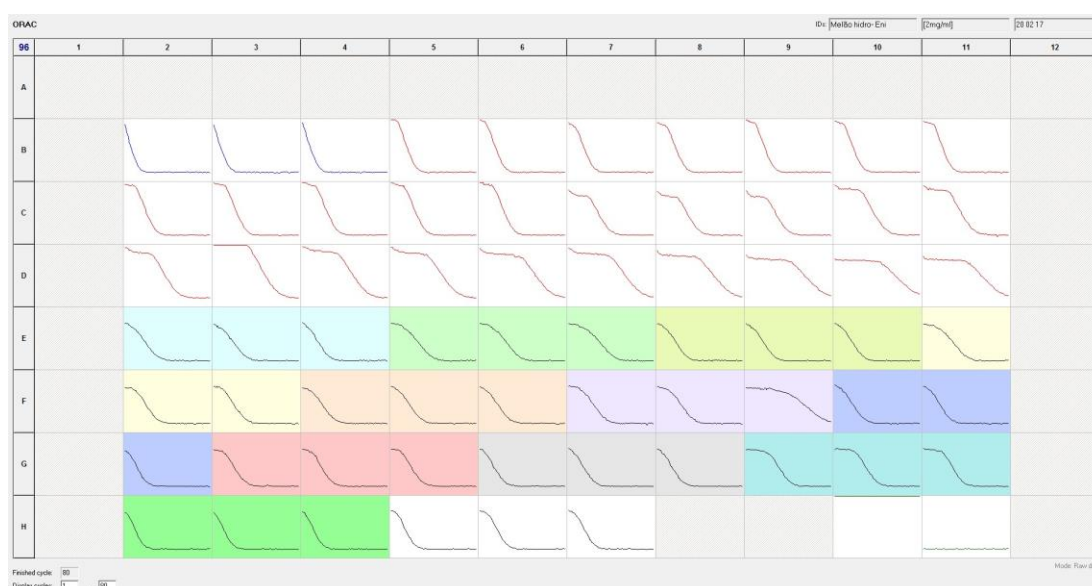


Figura 13. Apresentação dos resultados obtidos pela leitora de microplacas. B2-B4 correspondem ao branco; B5-D11 correspondem à curva padrão Trolox em ordem crescente de concentração (25, 50, 75, 100, 200, 300, 400, 500, 600 $\mu\text{mol mL}^{-1}$); a partir de E2 correspondem às amostras (2 mg mL^{-1}) E2-E4 melão Verde polpa; E5-E7 melão Verde casca; E8-E10 melão Amarelo polpa; E11-F3 melão Amarelo casca; F4-F6 melão Cantaloupe polpa; ; F7-F9 melão Cantaloupe casca; ; F10-G2 melão Orange polpa; G3-G5 melão Orange casca; G6-G8 melão Matisse polpa, G9-G11 melão Matisse casca; H2-H4 melão Gália polpa; H5-H7 melão Gália casca; H10 corresponde à fluoresceína (controle positivo); H11 corresponde ao AAPH (controle negativo).

4.8. Determinação da Glutathiona

Para realização deste trabalho foi necessária a adequação da metodologia para a quantificação da glutathiona em seis tipos de melões de duas variedades. Sendo assim, os ensaios foram baseados em métodos analíticos e bioanalíticos encontrados na literatura, contemplando a sensibilidade analítica e a disponibilidade de equipamentos e reagentes, em especial dos derivatizantes.

A liofilização da amostra foi realizada com objetivo de concentrar a GSH, além de preservá-la, pois segundo dados da literatura (CHEN et al., 2009), o teor de GSH em produtos *in natura* pode ser afetado pela sua degradação. Consequentemente, produtos desidratados (liofilizados) são mais estáveis, uma vez que diminuem as possibilidades de ocorrência de reações enzimáticas e crescimento de microrganismos. Para tanto, foram testados dois tipos de detectores: arranjo de diodos (DAD) e o detector de fluorescência (DF) para quantificação de glutathiona reduzida (GSH) e oxidada (GSSG) nas amostras de melões liofilizadas.

Os ensaios realizados utilizando detector de arranjo de diodos (DAD) com os padrões de GSH e GSSG, e derivatização com 5,5'-ditio-bis (2-ácido nitrobenzóico) – DTNB mostraram a oxidação da GSH à GSSG; o uso deste derivatizante possibilita a quantificação da glutatona total (GSH + GSSG). Porém, para as amostras não foi possível obter o mesmo desempenho alcançado pelos padrões, com o detector mostrando-se pouco sensível. Também foi levado em consideração que a quantificação da glutatona total (GSH + GSSG) não é tão importante como quantificar individualmente cada uma delas, já que os efeitos antioxidantes são provenientes da GSH.

Desta forma, neste estudo para quantificação da GSH foi utilizado detector de fluorescência por ser mais sensível e específico em relação ao detector DAD, com derivatização pré-coluna com o reagente orto-ftalaldeído (OPA). De acordo com Chust (1990) este tipo de detector permitiu discriminar os constituintes de interesse numa matriz complexa de substâncias não fluorescentes.

4.8.1. Curva analítica padrão de GSH

Definidas as condições cromatográficas, foi construída a curva analítica por padronização externa. A solução padrão de GSH (Fluka) foi preparada na concentração de 0,46 µg/mL em ácido clorídrico 10 mmol L⁻¹. A partir dessa solução estoque foram feitas diluições com pipetador eletrônico (HandyStep, Brand, Wertheim, Germany) para obtenção da curva analítica com seis diferentes concentrações de padrão de GSH em ácido clorídrico 10 mmol L⁻¹ e derivatizados conforme procedimento estabelecido para as amostras (item 4.8.2.) nas concentrações de 2,49x10⁻³; 4,98x10⁻³; 1,25x10⁻²; 2,49x10⁻²; 4,98x10⁻²; 1,25x10⁻¹ nmol mL⁻¹.

Os pontos da curva foram injetados em cromatógrafo líquido nas mesmas condições analíticas descritas no item 4.8.2., estabelecidas para a quantificação de GSH nas amostras de melões liofilizadas (polpas e cascas).

4.8.2. Quantificação da GSH nas amostras de melões liofilizadas por CLAE-FD

O procedimento foi realizado segundo a metodologia descrita por Neuschwander-Tetri (1989), com modificações. Uma mistura contendo 50,00 mg de amostra liofilizada pesada em balança analítica e 1 mL de ácido clorídrico 10 mmol L⁻¹, após homogeneização por 1 minuto em agitador de tubos tipo Vortex foi centrifugada (Sorvall RMC-14, Kendro Laboratory Products, Connecticut, USA) a 10.000 x g por 10 minutos a 5°C. A uma alíquota de 50 µL do sobrenadante foram adicionados 50 µL de solução de orto-ftalaldeído - OPA na concentração de 5 mg mL⁻¹ em solução de borato de potássio 0,4 mol L⁻¹ pH 9,9 (pHmetro Digmed, Tecnopon, Piracicaba, Brasil) e aguardado 1 minuto à temperatura ambiente para a reação de derivatização (Figura 14). O produto resultante da derivatização foi neutralizado adicionando-se 500 µL de fosfato de sódio 100 mmol L⁻¹ pH 7,0. Foi aliquotado 20 µL e injetados em cromatógrafo líquido (LC- 20 AT Prominence, Shimadzu, Kyoto, Japan) com detector de fluorescência (Shimadzu RF-10 AXL) ($\lambda_{\text{excitação}}$: 340 nm, $\lambda_{\text{emissão}}$: 420 nm); Coluna: C18 (150 x 4,6mm, 3µm, Prevail™). Fase Móvel: (A) acetato de sódio 0,15 mol L⁻¹, pH 7,0; (B) metanol; (C) água. A análise foi realizada com vazão de 0,5 mL min⁻¹. O gradiente utilizado foi de 100% de A por 15 min, 90% de A e 10% de B por 10 min, 100% de C por 15 min, 100% B por 15min, 100% de C por 10min, e 100% de A por 10min.

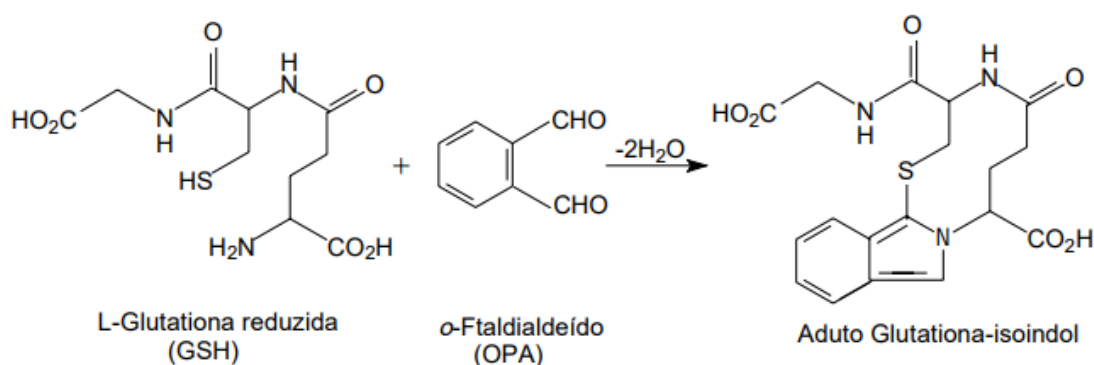


Figura 14. Reação de derivatização da glutathione reduzida com OPA para determinação por CLAE-FD.

Fonte: Rover Júnior et al. (2001).

4.9. Análise estatística

Todos os ensaios foram realizados em triplicata analítica e os resultados obtidos foram avaliados pela análise de variância XLSTAT 2012.6.03 - ANOVA, Addinsoft, utilizando-se o teste da Diferença Mínima Significativa (D.M.S.) de Tukey, considerando-se um nível de confiabilidade de 95% e o teste T Pareado, também considerando um nível de confiabilidade de 95%.

5. RESULTADOS E DISCUSSÃO

5.1. Caracterização físico-química

5.1.1. Composição Centesimal

Os resultados da caracterização físico-química das polpas base seca estão apresentados (Tabela 3), base úmida (Tabela 4) e para as cascas em base seca (Tabela 5) e base úmida (Tabela 6). O melão Matisse apresentou o menor valor de umidade ($90,82 \text{ g } 100 \text{ g}^{-1}$), a maior concentração de carboidratos ($7,16 \text{ g } 100 \text{ g}^{-1}$) e maior concentração de sólidos solúveis totais, equivalente a $10,70^\circ\text{Brix}$ (Tabela 4) e cinzas ($0,74 \text{ g } 100 \text{ g}^{-1}$) comparadas às outras amostras.

A tabela brasileira de composição de alimentos (TACO, 2011) apresentou composição centesimal para o melão por 100 g da parte comestível da fruta: umidade ($91,3 \text{ g}$), proteína ($0,7 \text{ g}$), lipídeos (traços), carboidratos ($7,5 \text{ g}$), fibra alimentar ($0,3 \text{ g}$), cinzas ($0,5 \text{ g}$), energia (29 Kcal).

Tabela 3. Caracterização físico-química das polpas em base seca

Melões - Polpas (base seca) $\text{g } 100 \text{ g}^{-1}$						
	Cantaloupe	Orange ¹	Gália	Amarelo	Verde ²	Matisse
Umidade*	Zero	Zero	Zero	Zero	Zero	Zero
Cinzas*	$6,66 \pm 0,17^c$	$7,98 \pm 0,24^a$	$6,35 \pm 0,01^c$	$6,16 \pm 0,15^c$	$7,34 \pm 0,11^b$	$8,10 \pm 0,13^a$
Lipídios totais*	$0,08 \pm 0,02^d$	$0,22 \pm 0,03^b$	$0,16 \pm 0,01^c$	$0,39 \pm 0,01^a$	$0,18 \pm 0,01^{bc}$	ND
Proteína*	$12,41 \pm 0,06^a$	$9,44 \pm 0,25^b$	$7,93 \pm 0,15^c$	$8,45 \pm 0,10^c$	$12,68 \pm 0,24^a$	$7,81 \pm 0,15^c$
FAT*	$8,87 \pm 0,18^{ab}$	$6,11 \pm 0,17^c$	$9,05 \pm 0,09^a$	$9,16 \pm 0,03^a$	$8,38 \pm 0,22^b$	$6,06 \pm 0,03^c$
FAI*	$5,53 \pm 0,10^b$	$4,27 \pm 0,13^c$	$6,32 \pm 0,16^a$	$4,45 \pm 0,09^c$	$2,30 \pm 0^d$	$1,58 \pm 0^e$
FAS*	$3,34 \pm 0,08^c$	$1,84 \pm 0,04^e$	$2,72 \pm 0,08^d$	$4,71 \pm 0,12^b$	$6,09 \pm 0,22^a$	$4,48 \pm 0,03^b$
Carboidratos**	71,98	76,25	76,51	75,84	71,42	78,03
Energia***	338	345	339	341	338	343

*Resultados expressos como média $\pm$ desvio padrão das análises em triplicata. Médias seguidas por uma mesma letra na mesma linha não diferem significativamente entre si pelo teste de Tukey ($p < 0,05$). **Calculados por diferença: $100 - (\text{proteína} + \text{umidade} + \text{lipídeos totais} + \text{cinzas} + \text{Fibra alimentar total})$. ***Calculada ($\text{kcal}/100\text{g}$) pela soma das porcentagens de proteína e carboidratos multiplicado pelo fator 4 (kcal/g) somado ao teor de lipídeos totais multiplicado pelo fator 9 (kcal/g). Fator de conversão de nitrogênio em proteína: ($\text{Nx}5,75$). FAT: Fibra Alimentar Total, FAI: Fibra Alimentar Insolúvel, FAS: Fibra Alimentar Solúvel. ND: Não Detectado. Para cálculo em base seca a umidade foi considerada Zero. ¹Orange Honeydew, ²Verde (Pele de Sapo).

Ao relacionar-se com os valores de proteínas obtidos neste estudo (Tabela 4) somente o melão Cantaloupe apresentou valor superior ($1,04 \text{ g } 100\text{g}^{-1}$), com diferença estatística ($p < 0,05$). Reis et al. (2008), em estudo da determinação da

composição centesimal da polpa do melão, encontraram nas polpas *in natura* dos melões Pele de Sapo valor de proteína de 0,31 g 100g⁻¹, inferior ao encontrado neste estudo que foi de 0,83 g 100g⁻¹ (Tabela 4).

Silva et al. (2011) observaram no estudo realizado com três variedades os parâmetros para o melão Pele de Sapo: umidade (95,75 %), cinzas (0,72 %), sólidos solúveis totais (4,66 °Brix) e para o melão Amarelo-Ouro: umidade (94,94 %), cinzas (0,33 %), sólidos solúveis totais (5,0 °Brix). Estes valores diferem dos encontrados neste estudo para os melões do tipo Pele de Sapo e Amarelo, principalmente em relação aos sólidos solúveis totais (Tabela 4) que apresentam valores superiores de 8,5 e 9,7 °Brix, respectivamente.

Tabela 4. Caracterização físico-química das polpas em base úmida

	Melões - Polpas (base úmida) g 100 g ⁻¹					
	Cantaloupe	Orange ¹	Gália	Amarelo	Verde ²	Matisse
Umidade e voláteis*	91,60 ± 0,11 ^c	93,24 ± 0,19 ^a	93,51 ± 0,12 ^a	92,48 ± 0,01 ^b	93,49 ± 0,12 ^a	90,82 ± 0,02 ^d
Cinzas*	0,56 ± 0,01 ^b	0,54 ± 0,02 ^b	0,41 ± 0,001 ^d	0,46 ± 0,01 ^a	0,48 ± 0,01 ^c	0,74 ± 0,01 ^a
Lipídios totais*	0,01 ± 0,001 ^{bc}	0,02 ± 0,002 ^b	0,01 ± 0,001 ^{bc}	0,03 ± 0,001 ^a	0,01 ± 0,001 ^{bc}	ND
Proteína*	1,04 ± 0,005 ^a	0,64 ± 0,02 ^d	0,51 ± 0,01 ^e	0,64 ± 0,01 ^d	0,83 ± 0,02 ^b	0,72 ± 0,01 ^c
FAT*	0,74 ± 0,02 ^a	0,41 ± 0,01 ^d	0,59 ± 0,01 ^c	0,69 ± 0,003 ^b	0,55 ± 0,01 ^c	0,56 ± 0 ^c
FAI*	0,46 ± 0,01 ^a	0,29 ± 0,01 ^d	0,41 ± 0,01 ^b	0,33 ± 0,01 ^c	0,15 ± 0 ^e	0,15 ± 0 ^e
FAS*	0,28 ± 0,01 ^c	0,12 ± 0,003 ^e	0,18 ± 0,01 ^d	0,35 ± 0,01 ^b	0,40 ± 0,01 ^a	0,41 ± 0 ^a
Carboidratos**	6,05	5,16	4,97	5,70	4,64	7,16
Energia***	28	23	22	26	22	32
°Brix	9,7 ± 0 ^b	8,0 ± 0 ^d	8,0 ± 0 ^d	9,7 ± 0 ^b	8,5 ± 0 ^c	10,7 ± 0 ^a

*Resultados expressos como média ± desvio padrão das análises em triplicata. Médias seguidas por uma mesma letra na mesma linha não diferem significativamente entre si pelo teste de Tukey ($p < 0,05$). **Calculados por diferença: 100 - (proteína + umidade + lipídeos totais + cinzas + Fibra alimentar total). ***Calculada (kcal/100g) pela soma das porcentagens de proteína e carboidratos multiplicado pelo fator 4 (kcal/g) somado ao teor de lipídeos totais multiplicado pelo fator 9 (kcal/g). Fator de conversão de nitrogênio em proteína: (Nx5,75). FAT: Fibra Alimentar Total, FAI: Fibra Alimentar Insolúvel, FAS: Fibra Alimentar Solúvel. ND: Não Detectado. ¹Orange Honeydew, ²Verde (Pele de Sapo).

Barreto (2011), em seu trabalho sobre qualidade, compostos bioativos e capacidade antioxidante de híbridos comerciais de meloeiro cultivado no Rio Grande do Norte e Ceará, reportou uma variação de 8,45 a 11,27 °Brix para híbridos do melão Amarelo, 10,10 a 13,25 °Brix para híbridos do melão Cantaloupe, 9,75 a 11,87 °Brix para híbridos do melão Gália, 10,63 e 11,07 °Brix para híbridos do melão Pele de Sapo e 11,05 °Brix para o híbrido 'Orange Flesh' do melão Honeydew, diferindo

bastante dos tipos estudados neste trabalho (Tabela 4), principalmente para os melões Orange, Gália e Pele de Sapo, os quais apresentaram teores inferiores (8 °Brix). Prado (2009), em seu estudo com frutas tropicais encontrou para o melão 7,07 °Brix de sólidos solúveis totais, valor inferior aos encontrados neste estudo.

Alguns autores (HUBBARD et al., 1989; VILLANUEVA et al., 2000) reportaram que a colheita é determinada através dos teores de sólidos solúveis totais presentes na polpa e os teores de açúcares não aumentam após a colheita. Sendo assim, variações na composição dos frutos dependem também das condições em que foram colhidos. Além disso, os frutos colhidos imaturos não alcançam os teores desejados de sólidos solúveis, que deve estar entre 9 e 12°Brix (FRUPEX, 1994).

Parveen et al. (2012) avaliaram as mudanças em vários parâmetros de qualidade do melão Muskmelon (*Cucumis melo* L.) colhido em três estádios diferentes de maturação (imaturo, parcialmente maduro e maduro) durante 30 dias e reportaram que a etapa de maturidade no momento da colheita influenciou a qualidade do armazenamento, apresentando o Muskmelon colhido parcialmente maduro, a melhor qualidade de armazenamento em relação aos sólidos solúveis totais (com variação de 8 – 13%), pH, acidez e cor da casca e polpa. Também apresentou bom sabor e aroma com baixa firmeza. Os melões colhidos em amadurecimento completo tiveram uma vida de armazenamento curta com atributos de baixa qualidade.

Adicionalmente, o teor de sólidos solúveis representa os conteúdos em açúcares, ácidos orgânicos e outros constituintes menores, sendo considerado um indicador de qualidade (doçura, sabor e maturidade) muito importante, e adotado como guia de mercado para a aceitabilidade de melões (SANTOS, 2003).

Os valores de fibras alimentares (Tabela 5) em especial a fibra alimentar solúvel das variedades de melões estudadas entre 8 e 18%, e a fibra alimentar total de 35 a 50% são valores importantes e que podem ser aproveitados para elaboração de novos produtos com apelo de fibra.

Tabela 5. Caracterização físico-química cascas em base seca

	Melões - Cascas (base seca) g 100 g ⁻¹					
	Cantaloupe	Orange ¹	Gália	Amarelo	Verde ²	Matisse
Umidade*	Zero	Zero	Zero	Zero	Zero	Zero
Cinzas*	15,86 ± 0,08 ^a	8,58 ± 0,06 ^e	12,89 ± 0,01 ^b	11,06 ± 0,11 ^d	12,28 ± 0,06 ^c	12,68 ± 0,12 ^b
Lipídios totais*	0,97 ± 0,02 ^c	1,39 ± 0,02 ^b	0,79 ± 0,02 ^d	1,47 ± 0,06 ^b	1,99 ± 0,02 ^a	1,49 ± 0,04 ^b
Proteína*	17,82 ± 0,28 ^b	14,28 ± 0,14 ^d	10,36 ± 0,05 ^e	16,67 ± 0,13 ^c	18,73 ± 0,22 ^a	10,75 ± 0,16 ^e
FAT*	48,69 ± 0,39 ^a	35,87 ± 0,61 ^c	41,42 ± 0,80 ^b	50,12 ± 0,51 ^a	42,70 ± 0,22 ^b	35,66 ± 0,23 ^c
FAI*	33,73 ± 0,09 ^a	26,43 ± 0,45 ^{bc}	32,94 ± 0,66 ^a	32,23 ± 0,09 ^a	28,09 ± 0,25 ^b	25,81 ± 0,06 ^c
FAS*	14,96 ± 0,30 ^b	9,44 ± 0,17 ^c	8,48 ± 0,14 ^d	17,89 ± 0,42 ^a	14,61 ± 0,02 ^b	9,85 ± 0,17 ^c
Carboidratos**	16,66	39,88	34,54	20,68	24,30	39,42
Energia***	147	229	187	163	190	214

*Resultados expressos como média ± desvio padrão das análises em triplicata. Médias seguidas por uma mesma letra na mesma linha não diferem significativamente entre si pelo teste de Tukey ($p < 0,05$). **Calculados por diferença: 100 – (proteína + umidade + lipídeos totais + cinzas + Fibra alimentar total). ***Calculada (kcal/100g) pela soma das porcentagens de proteína e carboidratos multiplicado pelo fator 4 (kcal/g) somado ao teor de lipídeos totais multiplicado pelo fator 9 (kcal/g). Fator de conversão de nitrogênio em proteína: (Nx5,75). FAT: Fibra Alimentar Total, FAI: Fibra Alimentar Insolúvel, FAS: Fibra Alimentar Solúvel. Para cálculo em base seca a umidade foi considerada Zero. ¹Orange Honeydew, ²Verde (Pele de Sapo).

Nos últimos anos muitos estudos visando o aproveitamento de subprodutos ou resíduos como cascas e sementes de melão vêm sendo realizados com o objetivo de incorporá-los na dieta humana. Al-Sayed & Ahmed (2013) em seu estudo substituíram parcialmente a farinha de trigo por uma mistura de farinha de cascas de melancia e melão no preparo de bolos. Já Akusu & Kiin-Kabari (2015) utilizaram farinhas de sementes de melancia e melão na proporção de 50% cada na preparação da sopa tipo “EGUSI”. Também conhecida por variações como agusi ou agushi, egusi é o nome dado às sementes ricas em gorduras e proteínas de certas plantas cucurbitáceas (abóbora, melão, cabaça, melancia), que depois de serem secas e moídas são usadas como ingrediente principal na cozinha da África Ocidental (MASSAQUOI, 2011), no preparo de ensopados e sopas contendo vegetais foliares, outros vegetais (tomate e quiabo), temperos e carne. Os principais países produtores da semente egusi incluem Mali, Burkina Faso, Togo, Gana, Costa do Marfim, Benim, Nigéria e Camarões (NATIONAL RESEARCH COUNCIL, 2006).

As cascas apresentaram valores superiores aos encontrados nas polpas (Tabelas 6) e estão próximos aos valores reportados por GONDIM et al. (2005) no trabalho em que determinaram a composição centesimal e de minerais em cascas de frutas cultivadas no Rio Grande do Norte. Os autores reportaram os resultados de umidade (93,23%), cinzas (0,96%), lipídeos (0,10%), proteínas (1,24%), fibras

(1,42%), carboidratos (3,05%), energia (18,05 kcal/100g) encontrados para as cascas de melão, exceto para fibra que foi 62% menor do teor encontrado para o Matisse (2,29 %) que foi também o menor valor de fibra alimentar encontrado neste trabalho.

Tabela 6. Caracterização físico-química das cascas em base úmida

	Melões - Cascas (base úmida) g 100 g ⁻¹					
	Cantaloupe	Orange ¹	Gália	Amarelo	Verde ²	Matisse
Umidade e voláteis*	91,86 ± 0,01 ^b	93,42 ± 0,04 ^a	91,26 ± 0,03 ^c	91,51 ± 0,03 ^{bc}	91,75 ± 0,02 ^b	93,57 ± 0,01 ^a
Cinzas*	1,29 ± 0,01 ^{bc}	0,56 ± 0,004 ^b	1,13 ± 0,001 ^{bc}	0,94 ± 0,01 ^a	1,01 ± 0,01 ^{bc}	0,82 ± 0,01 ^c
Lípidios totais*	0,08 ± 0,002 ^c	0,09 ± 0,002 ^b	0,07 ± 0,002 ^d	0,12 ± 0,01 ^b	0,16 ± 0,002 ^e	0,10 ± 0,003 ^b
Proteína*	1,45 ± 0,02 ^a	0,94 ± 0,01 ^d	0,91 ± 0,005 ^e	1,42 ± 0,01 ^d	1,54 ± 0,02 ^b	0,69 ± 0,01 ^c
FAT*	3,96 ± 0,03 ^a	2,36 ± 0,04 ^d	3,62 ± 0,07 ^b	4,26 ± 0,04 ^c	3,52 ± 0,02 ^e	2,29 ± 0,01 ^e
FAI*	2,74 ± 0,01 ^a	1,74 ± 0,03 ^d	2,88 ± 0,06 ^a	2,74 ± 0,01 ^a	2,31 ± 0,02 ^b	1,66 ± 0,004 ^c
FAS*	1,22 ± 0,20 ^c	0,62 ± 0,01 ^e	0,78 ± 0,01 ^d	1,52 ± 0,04 ^b	1,21 ± 0,002 ^a	0,63 ± 0,01 ^a
Carboidratos**	1,36	2,63	3,01	1,75	2,02	2,53
Energia***	12	15	16	14	16	14

*Resultados expressos como média ± desvio padrão das análises em triplicata. Médias seguidas por uma mesma letra na mesma linha não diferem significativamente entre si pelo teste de Tukey ($p < 0,05$). **Calculados por diferença: 100 – (proteína + umidade + lipídeos totais + cinzas + Fibra alimentar total). ***Calculada (kcal/100g) pela soma das porcentagens de proteína e carboidratos multiplicado pelo fator 4 (kcal/g) somado ao teor de lipídeos totais multiplicado pelo fator 9 (kcal/g). Fator de conversão de nitrogênio em proteína: (Nx5,75). FAT: Fibra Alimentar Total, FAI: Fibra Alimentar Insolúvel, FAS: Fibra Alimentar Solúvel. ¹Orange Honeydew, ²Verde (Pele de Sapo).

5.1.2. Aminoácidos

A somatória de aminoácidos em base seca (Tabelas 7 e 8) indicaram em equivalente protéico para as variedades dos melões (polpas e cascas, respectivamente) os valores: Cantaloupe (9,23 e 9,81 %), Orange (7,64 e 9,52 %), Gália (6,63 e 7,59 %), Amarelo (4,42 e 10,64%), Verde (8,20 e 11,11%), Matisse (6,42 e 6,63 %). Estes valores compreendem uma faixa de 52 % a 82 % para a polpa e de 55 a 73 % para a casca do total de proteína encontrada neste estudo pelo método de *Kjeldhal* (Tabelas 5 e 6). Portanto, os valores de proteína encontrados pelo método de *Kjeldhal* podem ser considerados superestimados devido a provável presença de nitrogênio de origem não protéica, ou seja, a presença de vitaminas, nitratos utilizados na fertilização do solo, entre outros compostos nitrogenados.

Entre os aminoácidos das variedades estudadas foi encontrada diferença estatística ($p < 0,05$), porém o ácido glutâmico foi o aminoácido predominante em todas as amostras estudadas, tanto nas polpas (Tabelas 7 e 9) quanto nas cascas (Tabelas 8 e 10). Já o melão Cantaloupe apresentou o mesmo teor de alanina na polpa e na casca ($1,29 \text{ g } 100\text{g}^{-1}$). Os aminoácidos que apresentaram maiores concentrações foram o ácido aspártico, ácido glutâmico e a alanina e os menores níveis encontrados foram para os aminoácidos metionina e cisteína, predominando as menores concentrações de metionina nas cascas.

Os resultados de aminoácidos das polpas foram comparados aos valores de referência do banco de dados *Frida Food Data Base* (2017) apresentados na Tabela 9, mostrando que as somatórias para o melão Cantaloupe e *Honeydew Orange* apresentaram-se similares as deste estudo, porém há uma variação entre os teores de aminoácidos, exceto no Cantaloupe que apresentaram valores muito próximos aos reportados pela *Frida Food Data Base* (2017) de histidina e treonina, enquanto para o Honeydew Orange foram o ácido aspártico, histidina, prolina e lisina.

Rodríguez-Pérez et al. (2013) reportaram em estudo de caracterização qualitativa de frações polares dos extratos de melões das variedades espanholas Gália, Cantaloupe e Pele de Sapo, utilizando a técnica HPLC-ESI-Q-TOF-MS, os aminoácidos glutamina, tirosina, fenilalanina e triptofano.

Na literatura não foram encontrados muitos trabalhos sobre o perfil de aminoácidos em melões, provavelmente pelo fato do fruto não ser considerado uma boa fonte de proteína, porém o fruto desidratado revelou valores consideráveis de aminoácidos. Neste estudo é importante ressaltar que foram encontrados todos os aminoácidos não essenciais nas variedades de melões estudadas, só não permitiu fazer a mesma afirmação para os aminoácidos essenciais, uma vez que o triptofano não foi analisado neste estudo.

Tabela 7. Concentração de aminoácidos em polpas de melões em base seca

Aminoácidos	Melões - Polpas (base seca)											
	Cantaloupe		Honeydew Orange		Gália		Amarelo		Verde (Pele de Sapo)		Matisse	
	mg 100g ⁻¹	%	mg 100g ⁻¹	%	mg 100g ⁻¹	%	mg 100g ⁻¹	%	mg 100g ⁻¹	%	mg 100g ⁻¹	%
Ác. Aspártico	1068,5 ± 8,9 ^b	1,07	1293,0 ± 1,0 ^a	1,29	724,5 ± 5,4 ^e	0,72	601,9 ± 1,7 ^f	0,60	1042,6 ± 1,2 ^c	1,04	890,2 ± 1,1 ^d	0,90
Ác. Glutâmico	3375,4 ± 2,4 ^b	3,38	2742,2 ± 2,4 ^d	2,74	3105,9 ± 5,1 ^c	3,11	1468,6 ± 1,5 ^f	1,47	3539,4 ± 2,6 ^a	3,54	1937,8 ± 3,0 ^e	1,94
Serina	374,3 ± 1,1 ^a	0,37	288,1 ± 0,2 ^e	0,29	296,3 ± 0,4 ^d	0,30	199,1 ± 0,3 ^f	0,20	357,5 ± 0,4 ^c	0,36	365,4 ± 0,2 ^b	0,37
Glicina	258,3 ± 0,7 ^a	0,26	211,7 ± 1,3 ^c	0,21	187,5 ± 0,1 ^d	0,19	133,9 ± 1,5 ^f	0,13	227,3 ± 0,4 ^b	0,28	181,8 ± 1,2 ^e	0,18
Histidina	172,7 ± 4,7 ^b	0,17	172,9 ± 3,7 ^b	0,17	154,2 ± 0,3 ^b	0,15	150,3 ± 0,5 ^b	0,15	223,6 ± 0,3 ^a	0,22	110,8 ± 1,1 ^c	0,11
Arginina	1045,4 ± 1,8 ^b	1,05	247,7 ± 20,4 ^d	0,25	179,5 ± 6,7 ^e	0,18	247,7 ± 1,1 ± 0,8 ^d	0,25	597,5 ± 1,3 ^c	0,60	1188,3 ± 3,0 ^a	1,19
Treonina	185,6 ± 0,3 ^a	0,19	141,2 ± 0,2 ^c	0,14	132,4 ± 1,4 ^d	0,13	92,5 ± 0,1 ^f	0,09	158,6 ± 0,1 ^b	0,16	123,3 ± 1,6 ^e	0,12
Alanina	1288,9 ± 1,7 ^a	1,29	864,6 ± 1,3 ^b	0,86	677,9 ± 0,1 ^c	0,68	263,3 ± 0,1 ^f	0,26	549,0 ± 0,4 ^e	0,55	609,2 ± 0,1 ^d	0,61
Prolina	137,6 ± 1,0 ^c	0,14	157,5 ± 0,6 ^a	0,16	126,1 ± 0,5 ^d	0,13	107,7 ± 0,2 ^e	0,11	147,9 ± 1,0 ^b	0,15	98,7 ± 0,3 ^f	0,10
Tirosina	101,2 ± 0,1 ^{ab}	0,10	78,0 ± 2,1 ^b	0,08	91,2 ± 10,2 ^{ab}	0,09	81,4 ± 12,1 ^b	0,08	109,4 ± 0,4 ^a	0,11	79,7 ± 0,6 ^b	0,08
Valina	262,7 ± 0,8 ^a	0,26	205,0 ± 0,8 ^c	0,21	193,4 ± 0,5 ^d	0,19	147,1 ± 0,3 ^f	0,15	255,0 ± 0,8 ^b	0,26	185,9 ± 0,6 ^e	0,19
Metionina	73,6 ± 0,4 ^b	0,07	56,2 ± 0,3 ^d	0,56	56,0 ± 0,2 ^d	0,06	43,4 ± 0,2 ^e	0,04	82,75 ± 0,1 ^a	0,08	61,9 ± 0,9 ^c	0,06
Cisteína	71,5 ± 3,3 ^a	0,07	61,0 ± 0,0 ^b	0,06	55,1 ± 3,0 ^{bc}	0,06	50,2 ± 1,3 ^c	0,05	69,3 ± 2,6 ^a	0,07	37,7 ± 0,5 ^d	0,04
Isoleucina	148,5 ± 0,1 ^a	0,15	125,1 ± 0,1 ^d	0,13	135,92 ± 0,01 ^c	0,14	110,3 ± 0,7 ^e	0,11	140,0 ± 0,3 ^b	0,14	105,1 ± 0,9 ^f	0,11
Leucina	199,0 ± 0,5 ^b	0,20	177,9 ± 0,5 ^c	0,18	201,2 ± 0,1 ^a	0,20	141,1 ± 0,3 ^f	0,14	175,31 ± 0,02 ^d	0,18	156,9 ± 0,2 ^e	0,16
Fenilalanina	160,3 ± 5,1 ^b	0,16	148,2 ± 0,2 ^{bc}	0,15	118,4 ± 1,7 ^{de}	0,12	135,6 ± 0,9 ^{cd}	0,14	297,3 ± 0,9 ^a	0,30	112,3 ± 9,1 ^e	0,11
Lisina	186,8 ± 0,3 ^a	0,19	164,7 ± 0,2 ^c	0,16	180,5 ± 1,5 ^b	0,18	450,9 ± 8,2 ^c	0,45	162,5 ± 1,1 ^c	0,16	148,1 ± 0,2 ^d	0,15
Total	9.110,3	9,12	7.135,0	7,64	6.616,0	6,63	4.102,8	4,42	8.135,0	8,20	6.393,1	6,42
*Proteína	12,41		9,44		7,93		8,45		12,68		7,81	

Resultados expressos como média ± desvio padrão das análises em triplicata. Médias seguidas por uma mesma letra na mesma linha não diferem significativamente entre si pelo teste de Tukey ($p < 0,05$). *Proteína determinada pelo método de Kjeldhal, fator de conversão de nitrogênio em proteína: (Nx5,75).

Tabela 8. Concentração de aminoácidos em cascas de melões em base seca

Aminoácidos	Melões - Cascas (base seca)											
	Cantaloupe		Honeydew Orange		Gália		Amarelo		Verde (Pele de Sapo)		Matisse	
	mg 100g ⁻¹	%	mg 100g ⁻¹	%	mg 100g ⁻¹	%	mg 100g ⁻¹	%	mg 100g ⁻¹	%	mg 100g ⁻¹	%
Ác. Aspártico	691,5 ± 6,2 ^e	0,69	993,1 ± 7,9 ^a	0,99	765,9 ± 2,8 ^d	0,77	924,1 ± 18,8 ^b	0,92	860,7 ± 0,2 ^c	0,86	601,7 ± 5,9 ^f	0,60
Ác. Glutâmico	3261,2 ± 4,0 ^c	3,26	4300,4 ± 14,0 ^b	4,30	2139,6 ± 9,4 ^e	2,14	4668,0 ± 1,9 ^a	4,67	3153,9 ± 1,9 ^d	3,15	1238,7 ± 0,9 ^f	1,24
Serina	551,8 ± 6,5 ^a	0,55	354,7 ± 0,4 ^d	0,35	430,1 ± 0,1 ^b	0,43	434,4 ± 6,8 ^b	0,43	562,8 ± 6,5 ^a	0,56	384,1 ± 1,5 ^c	0,38
Glicina	381,5 ± 1,4 ^c	0,38	311,2 ± 1,6 ^f	0,31	354,6 ± 0,8 ^d	0,35	414,6 ± 0,6 ^b	0,41	520,2 ± 0,2 ^a	0,52	344,2 ± 5,8 ^e	0,34
Histidina	244,9 ± 1,5 ^b	0,24	207,2 ± 1,3 ^c	0,21	214,2 ± 0 ^c	0,21	208,3 ± 3,8 ^c	0,21	297,4 ± 1,2 ^a	0,30	201,2 ± 5,3 ^c	0,20
Arginina	648,1 ± 3,7 ^c	0,65	690,2 ± 8,0 ^{bc}	0,69	475,9 ± 27,5 ^d	0,48	741, ± 4 9,4 ^b	0,74	1092,4 ± 3,5 ^a	1,09	523,4 ± 1,7 ^d	0,52
Treonina	313,8 ± 0,2 ^b	0,31	238,6 ± 0,1 ^e	0,23	227,1 ± 3,7 ^f	0,23	283,1 ± 0,3 ^c	0,28	393,7 ± 0,5 ^a	0,39	251,4 ± 1,8 ^d	0,25
Alanina	1286,8 ± 2,6 ^a	1,29	427,9 ± 0,2 ^f	0,43	936,3 ± 1,2 ^b	0,94	499,0 ± 0,05 ^d	0,50	707,5 ± 0,3 ^c	0,71	475,9 ± 0,9 ^e	0,48
Prolina	270,1 ± 1,6 ^c	0,27	258,1 ± 1,4 ^d	0,26	250,9 ± 0,9 ^e	0,25	291,7 ± 1,3 ^b	0,29	417,0 ± 2,0 ^a	0,42	275,5 ± 1,1 ^c	0,28
Tirosina	233,1 ± 2,5 ^b	0,23	200,9 ± 27,6 ^b	0,20	204,3 ± 0,1 ^b	0,20	236,1 ± 7,3 ^b	0,24	346,7 ± 46,1 ^a	0,35	273,5 ± 0,2 ^{ab}	0,27
Valina	417,3 ± 0,8 ^b	0,42	319,7 ± 1,3 ^d	0,32	319,3 ± 1,0 ^d	0,32	407,8 ± 1,7 ^c	0,41	564,5 ± 1,3 ^a	0,56	413,0 ± 1,7 ^{bc}	0,41
Metionina	13,1 ± 2,1 ^b	0,01	32,0 ± 5,3 ^a	0,03	15,8 ± 0 ^b	0,02	29,8 ± 1,8 ^a	0,03	9,7 ± 0,2 ^b	0,01	12,4 ± 0,3 ^b	0,01
Cisteína	84,2 ± 1,0 ^b	0,08	79,8 ± 1,5 ^b	0,08	87,0 ± 3,1 ^b	0,09	69,5 ± 0,3 ^c	0,07	98,8 ± 1,5 ^a	0,10	64,3 ± 3,6 ^c	0,06
Isoleucina	284,1 ± 2,3 ^d	0,28	237,4 ± 1,9 ^e	0,24	238,9 ± 0,7 ^e	0,24	294,2 ± 0,4 ^c	0,29	411,7 ± 0,5 ^a	0,41	307,6 ± 1,9 ^b	0,31
Leucina	449,7 ± 1,6 ^c	0,45	354,9 ± 0,9 ^e	0,34	381,5 ± 0,2 ^d	0,38	444,2 ± 0,4 ^c	0,44	666,9 ± 2,3 ^a	0,67	489,5 ± 2,1 ^b	0,49
Fenilalanina	311,5 ± 2,2 ^b	0,31	211,6 ± 5,7 ^c	0,21	214,8 ± 1,1 ^c	0,21	263,6 ± 40 ^{bc}	0,26	450,3 ± 1,8 ^a	0,45	324,8 ± 36,5 ^b	0,32
Lisina	386,2 ± 8,7 ^d	0,39	336,3 ± 0,5 ^e	0,34	329,0 ± 0,9 ^e	0,33	450,9 ± 8,2 ^c	0,45	563,7 ± 2,3 ^a	0,56	472,6 ± 3,3 ^b	0,47
Total	9.828,9	9,81	9.554,0	9,52	7.525,2	7,59	10.660,7	10,64	11.117,9	11,11	6.653,8	6,63
*Proteína		17,82		14,28		10,36		16,67		18,73		10,75

Resultados expressos como média ± desvio padrão das análises em triplicata. Médias seguidas por uma mesma letra na mesma linha não diferem significativamente entre si pelo teste de Tukey ($p < 0,05$). *Proteína determinada pelo método de Kjeldhal, fator de conversão de nitrogênio em proteína: (Nx5,75).

Tabela 9. Concentração de aminoácidos em polpas de melões em base úmida

Aminoácidos	Melões - Polpas (base úmida)													
	Cantaloupe			Honeydew Orange			Gália		Amarelo		Verde (Pele de Sapo)		Matisse	
	mg 100g ⁻¹	*FDB	%	mg 100g ⁻¹	*FDB	%	mg 100g ⁻¹	%	mg 100g ⁻¹	%	mg 100g ⁻¹	%	mg 100g ⁻¹	%
Ác. Aspártico	89,7 ± 0,7 ^a	134	0,09	87,4 ± 0,1 ^b	88	0,08	47,0 ± 0,4 ^e	0,05	45,3 ± 0,1 ^f	0,05	67,9 ± 0,1 ^d	0,06	81,7 ± 0,1 ^c	0,08
Ác. Glutâmico	283,5 ± 0,2 ^a	214	0,28	185,4 ± 0,2 ^d	141	0,19	201,6 ± 0,3 ^c	0,20	110,4 ± 0,1 ^f	0,11	230,4 ± 0,2 ^b	0,23	177,9 ± 0,3 ^e	0,18
Serina	31,4 ± 0,1 ^b	42	0,03	19,5 ± 0,01 ^d	27	0,02	19,2 ± 0,02 ^e	0,02	15,0 ± 0,02 ^f	0,02	23,3 ± 0,03 ^c	0,02	33,5 ± 0,02 ^a	0,03
Glicina	21,7 ± 0,1 ^a	25	0,02	14,3 ± 0,1 ^d	17	0,01	12,2 ± 0,01 ^e	0,01	10,1 ± 0,1 ^f	0,01	14,8 ± 0,03 ^c	0,01	16,7 ± 0,1 ^b	0,02
Histidina	14,5 ± 0,4 ^a	15	0,01	11,7 ± 0,9 ^b	10	0,01	10,0 ± 0,02 ^c	0,01	11,3 ± 0,04 ^{bc}	0,01	14,6 ± 0,02 ^a	0,01	10,2 ± 0,1 ^{bc}	0,01
Arginina	87,8 ± 0,1 ^b	29	0,08	16,7 ± 1,4 ^d	19	0,02	11,6 ± 0,4 ^e	0,01	18,6 ± 0,8 ^d	0,02	38,9 ± 0,1 ^e	0,04	109,1 ± 0,3 ^a	0,11
Treonina	15,6 ± 0,02 ^a	17	0,02	9,5 ± 0,01 ^d	11	0,01	8,6 ± 0,1 ^e	0,01	6,9 ± 0,005 ^f	0,01	10,3 ± 0,01 ^e	0,01	11,3 ± 0,1 ^b	0,01
Alanina	108,3 ± 0,1 ^a	95	0,11	58,4 ± 0,1 ^b	62	0,06	44,0 ± 0,01 ^d	0,04	19,8 ± 0,01 ^f	0,02	35,7 ± 0,02 ^d	0,04	55,9 ± 0,004 ^c	0,06
Prolina	11,6 ± 0,1 ^a	19	0,01	10,6 ± 0,04 ^b	12	0,01	8,2 ± 0,03 ^e	0,01	8,1 ± 0,02 ^e	0,01	9,6 ± 0,1 ^e	0,01	9,1 ± 0,02 ^d	0,01
Tirosina	8,51 ± 0,004 ^a	13	0,01	5,3 ± 0,1 ^c	9	0,01	5,9 ± 0,7 ^{bc}	0,01	6,1 ± 0,9 ^{bc}	0,01	7,1 ± 0,03 ^{bc}	0,01	7,3 ± 0,1 ^{ab}	0,01
Valina	22,1 ± 0,1 ^a	34	0,02	13,9 ± 0,1 ^d	22	0,01	12,5 ± 0,03 ^e	0,01	11,1 ± 0,02 ^f	0,01	16,6 ± 0,05 ^e	0,02	17,1 ± 0,05 ^b	0,02
Metionina	6,2 ± 0,03 ^a	12	0,01	3,8 ± 0,02 ^d	2	0,00	3,6 ± 0,01 ^d	0,00	3,3 ± 0,01 ^e	0,00	5,4 ± 0,01 ^d	0,01	5,7 ± 0,1 ^b	0,01
Cisteína	6,0 ± 0,3 ^a	2	0,01	4,1 ± 0,002 ^{bc}	1	0,00	3,6 ± 0,2 ^{cd}	0,00	3,8 ± 0,1 ^{cd}	0,00	4,5 ± 0,2 ^{cd}	0,00	3,5 ± 0,05 ^d	0,00
Isoleucina	12,5 ± 0,01 ^a	21	0,01	8,5 ± 0,004 ^e	14	0,01	8,8 ± 0,004 ^d	0,01	8,3 ± 0,05 ^f	0,01	9,1 ± 0,02 ^d	0,01	9,6 ± 0,1 ^b	0,01
Leucina	16,7 ± 0,04 ^a	29	0,02	12,0 ± 0,03 ^d	19	0,01	13,1 ± 0,03 ^c	0,01	10,6 ± 0,02 ^f	0,01	11,4 ± 0,00 ^c	0,01	14,4 ± 0,02 ^b	0,01
Fenilalanina	13,5 ± 0,4 ^b	23	0,01	10,0 ± 0,01 ^c	18	0,01	7,7 ± 0,1 ^d	0,01	10,2 ± 0,1 ^c	0,01	19,3 ± 0,1 ^d	0,02	10,3 ± 0,8 ^c	0,01
Lisina	15,7 ± 0,03 ^a	-	0,02	11,1 ± 0,02 ^d	14	0,01	11,7 ± 0,1 ^c	0,01	9,7 ± 0,002 ^f	0,01	10,6 ± 0,1 ^c	0,01	13,6 ± 0,02 ^b	0,01
Total	765,3	724	0,76	482,2	486	0,47	429,3	0,42	308,6	0,32	529,5	0,52	586,9	0,59

Resultados expressos como média ± desvio padrão das análises em triplicata. Médias seguidas por uma mesma letra na mesma linha não diferem significativamente entre si pelo teste de Tukey (p < 0,05). *FDB: Food Data Base, com valores de referência de aminoácidos (mg 100g⁻¹).

Tabela 10. Concentração de aminoácidos em cascas de melões em base úmida

Aminoácidos	Melões - Cascas (base úmida)											
	Cantaloupe		Honeydew Orange		Gália		Amarelo		Verde (Pele de Sapo)		Matisse	
	mg 100g ⁻¹	%	mg 100g ⁻¹	%	mg 100g ⁻¹	%	mg 100g ⁻¹	%	mg 100g ⁻¹	%	mg 100g ⁻¹	%
Ác. Aspártico	56,3 ± 0,5 ^d	0,06	65,3 ± 0,5 ^c	0,06	66,9 ± 0,2 ^c	0,07	78,5 ± 1,6 ^a	0,08	71,0 ± 0,002 ^b	0,07	38,7 ± 0,4 ^e	0,04
Ác. Glutâmico	265,5 ± 0,3 ^c	0,27	283,0 ± 0,9 ^b	0,28	187,0 ± 1,7 ^e	0,19	396,3 ± 0,2 ^a	0,40	260,2 ± 0,2 ^d	0,26	79,6 ± 0,1 ^f	0,08
Serina	44,9 ± 0,5 ^a	0,05	23,3 ± 0,03 ^c	0,02	37,6 ± 0,01 ^b	0,04	36,9 ± 0,6 ^b	0,04	46,4 ± 0,5 ^a	0,05	24,7 ± 0,1 ^c	0,02
Glicina	31,1 ± 0,1 ^c	0,03	20,5 ± 0,1 ^d	0,02	31,0 ± 0,1 ^c	0,03	35,2 ± 0,05 ^b	0,04	42,9 ± 0,02 ^a	0,04	22,1 ± 0,4 ^d	0,02
Histidina	19,9 ± 0,1 ^b	0,02	13,6 ± 0,1 ^d	0,01	18,7 ± 0,0 ^{bc}	0,02	17,7 ± 0,3 ^c	0,02	24,5 ± 0,9 ^a	0,02	12,9 ± 0,3 ^d	0,01
Arginina	52,8 ± 0,3 ^c	0,05	45,4 ± 0,5 ^d	0,05	41,6 ± 2,4 ^d	0,04	62,9 ± 0,8 ^b	0,06	90,1 ± 0,3 ^a	0,09	33,7 ± 1,1 ^e	0,03
Treonina	25,6 ± 0 ^b	0,03	15,7 ± 0,01 ^e	0,02	19,8 ± 0,3 ^d	0,02	24,0 ± 0,03 ^c	0,02	32,5 ± 0,04 ^a	0,03	16,2 ± 0,1 ^e	0,02
Alanina	104,7 ± 0,2 ^a	0,10	28,2 ± 0,01 ^f	0,03	81,8 ± 0,1 ^b	0,08	42,4 ± 0,0 ^d	0,04	58,4 ± 0,03 ^c	0,06	30,6 ± 0,1 ^e	0,03
Prolina	22,0 ± 0,1 ^c	0,02	17,0 ± 0,1 ^e	0,02	21,9 ± 0,1 ^c	0,02	24,8 ± 0,1 ^b	0,03	34,4 ± 0,2 ^a	0,03	17,7 ± 0,1 ^d	0,02
Tirosina	19,0 ± 0,2 ^b	0,02	13,2 ± 1,8 ^b	0,01	17,9 ± 0,01 ^b	0,02	20,0 ± 0,6 ^b	0,02	28,6 ± 3,8 ^a	0,03	17,6 ± 0,01 ^b	0,02
Valina	34,0 ± 0,1 ^c	0,03	21,0 ± 0,1 ^f	0,02	27,9 ± 0,1 ^d	0,03	34,6 ± 0,1 ^b	0,03	46,6 ± 0,1 ^a	0,05	26,6 ± 0,1 ^e	0,03
Metionina	1,1 ± 0,2 ^b	0,00	2,1 ± 0,3 ^a	0,00	1,4 ± 0,002 ^b	0,00	2,5 ± 0,1 ^a	0,00	0,8 ± 0,02 ^b	0,00	0,8 ± 0,02 ^b	0,00
Cisteína	6,8 ± 0,1 ^b	0,01	5,2 ± 0,1 ^c	0,01	7,6 ± 0,3 ^a	0,01	5,9 ± 0,03 ^c	0,01	8,1 ± 0,1 ^a	0,01	4,1 ± 0,2 ^d	0,00
Isoleucina	23,1 ± 0,2 ^c	0,02	15,6 ± 0,1 ^f	0,02	20,9 ± 0,1 ^d	0,02	25,0 ± 0,03 ^b	0,03	34,0 ± 0,04 ^a	0,03	19,8 ± 0,1 ^e	0,02
Leucina	36,6 ± 0,1 ^b	0,04	23,3 ± 0,1 ^d	0,02	33,3 ± 0,02 ^c	0,03	37,7 ± 0,03 ^b	0,04	55,0 ± 0,2 ^a	0,06	31,5 ± 0,1 ^c	0,03
Fenilalanina	25,4 ± 0,2 ^b	0,03	13,9 ± 0,4 ^c	0,01	18,8 ± 0,1 ^{bc}	0,02	22,4 ± 3,4 ^b	0,02	37,1 ± 0,1 ^a	0,04	20,9 ± 2,3 ^b	0,02
Lisina	31,4 ± 0,7 ^c	0,03	22,1 ± 0,03 ^e	0,02	28,8 ± 0,1 ^d	0,03	38,3 ± 0,7 ^b	0,04	46,5 ± 0,2 ^a	0,05	30,4 ± 0,2 ^{cd}	0,03
Total	778,2	0,81	628,4	0,62	662,9	0,67	905,1	0,92	917,1	0,92	410,3	0,41

Resultados expressos como média ± desvio padrão das análises em triplicata. Médias seguidas por uma mesma letra na mesma linha não diferem significativamente entre si pelo teste de Tukey ($p < 0,05$).

5.2. β -caroteno, Vitamina A e Carotenoides totais

Os frutos com polpa de coloração alaranjada intensa, em geral apresentam maiores teores de β -caroteno, vitamina A e carotenoides totais, que neste estudo foram os melões Cantaloupe e Honeydew Orange com valores de 2,4 e 1,9 mg 100 g⁻¹, para a análise de β -caroteno (Tabela 11) e 2,5 e 2,9 mg 100 g⁻¹ para a análise de carotenoides totais (Tabela 12), indicando presença de outros carotenoides além do β -caroteno no melão Orange.

Tabela 11. Concentração de β -caroteno em polpas e cascas de melões

	β -caroteno (mg 100g ⁻¹)			
	Polpas		Cascas	
	Base seca	Base úmida	Base seca	Base úmida
Cantaloupe	28,9 $\pm$ 1,3 ^a	2,40 $\pm$ 0,10 ^a	13,35 $\pm$ 0,35 ^a	1,10 $\pm$ 0,01 ^a
Orange*	28,8 $\pm$ 0,5 ^a	1,90 $\pm$ 0,01 ^b	4,60 $\pm$ 0,10 ^c	0,30 $\pm$ 0,02 ^c
Gália	0,17 $\pm$ 0,02 ^b	0,01 $\pm$ 0,001 ^c	0,31 $\pm$ 0,02 ^d	0,02 $\pm$ 0,001 ^d
Amarelo	0,19 $\pm$ 0,01 ^b	0,01 $\pm$ 0,001 ^c	0,10 $\pm$ 0,01 ^d	0,01 $\pm$ 0,001 ^d
Verde **	0,13 $\pm$ 0,01 ^b	0,01 $\pm$ 0,001 ^c	7,92 $\pm$ 0,10 ^b	0,65 $\pm$ 0,01 ^b
Matisse	0,06 $\pm$ 0,01 ^b	0,01 $\pm$ 0,001 ^c	0,11 $\pm$ 0,01 ^d	0,01 $\pm$ 0,001 ^d

Resultados expressos como média $\pm$ desvio padrão das análises em triplicata. Médias seguidas por uma mesma letra na mesma coluna não diferem significativamente entre si pelo teste de Tukey ($p < 0,05$). *Orange Honeydew, **Verde (Pele de Sapo).

Barreto (2011) encontrou em seu trabalho com híbridos de melões brasileiros provenientes do Rio Grande do Norte e Ceará valores médios para os híbridos do tipo Cantaloupe de 1,78 a 2,42 mg 100 g⁻¹ para a concentração de carotenoides totais (84%), assim como no estudo de Anselmo (2007), as variedades Cantaloupe apresentaram valores de 1,0 e 1,4 mg.100 g⁻¹, sendo estes valores inferiores (48%) aos encontrados neste trabalho (Tabela 12).

Nos frutos do tipo Amarelo e Matisse, que apresentam polpa de coloração clara (creme e branca, respectivamente), verificou-se baixo nível (inferior a 0,5%) de β -caroteno 0,01 e 0,005 mg 100 g⁻¹ (Tabela 11) e carotenóides totais (1,2%) 0,04 e 0,02 mg 100 g⁻¹ (Tabela 12), em relação aos melões de polpa alaranjada Cantaloupe e Orange. O mesmo foi verificado com os melões do tipo Gália e Pele de Sapo, cujos frutos possuem polpa de coloração levemente esverdeada, apresentando concentrações baixas de β - caroteno (inferior a 0,5%) 0,01 mg 100g⁻¹ para ambos e carotenóides totais (2,5%) 0,08 e 0,05 mg 100g⁻¹, respectivamente.

Tabela 12. Concentração de carotenóides totais em polpas e cascas de melões expressos como β -caroteno

	Carotenóides totais expressos como beta caroteno (mg 100g ⁻¹)			
	Polpas		Cascas	
	Base seca	Base úmida	Base seca	Base úmida
Cantaloupe	33,83 $\pm$ 0,74 ^b	2,50 $\pm$ 0,10 ^b	35,20 $\pm$ 0,90 ^b	2,90 $\pm$ 0,10 ^b
Orange*	38,86 $\pm$ 0,22 ^a	2,90 $\pm$ 0,1 ^a	8,42 $\pm$ 0,20 ^c	0,60 $\pm$ 0,02 ^c
Gália	1,21 $\pm$ 0,02 ^c	0,08 $\pm$ 0,02 ^c	3,31 $\pm$ 0,16 ^d	0,21 $\pm$ 0,01 ^d
Amarelo	0,60 $\pm$ 0,01 ^c	0,04 $\pm$ 0,01 ^c	0,66 $\pm$ 0,01 ^e	0,06 $\pm$ 0,01 ^e
Verde**	0,60 $\pm$ 0,01 ^c	0,05 $\pm$ 0,01 ^c	71,17 $\pm$ 0,23 ^a	5,87 $\pm$ 0,02 ^a
Matisse	0,21 $\pm$ 0,01 ^c	0,02 $\pm$ 0,01 ^c	1,02 $\pm$ 0,03 ^e	0,07 $\pm$ 0,03 ^e

Resultados expressos como média $\pm$ desvio padrão das análises em triplicata. Médias seguidas por uma mesma letra na mesma coluna não diferem significativamente entre si pelo teste de Tukey ($p < 0,05$). *Orange Honeydew, **Verde (Pele de Sapo).

Yano et al. (2005) em estudo de quantificação de carotenóides em frutas *in natura* e processadas no Japão relataram serem os frutos de melão uma excelente fonte de carotenóides principalmente β -caroteno, os autores encontraram 6,086 e 0,043 mg 100 g⁻¹ nas polpas dos melões vermelho e amarelo, respectivamente. Estes resultados estão de acordo com trabalho de Wolbang et al. (2010) que utilizaram diferentes cultivares de melão Honeydew e relataram que melões de polpa alaranjada possuíam níveis mais elevados de β -caroteno (1 a 23 mg kg⁻¹) em relação ao melão verde ou de polpa branca.

No estudo de Robinson & Decker-Walter (1999) os pesquisadores relataram que o Cantaloupe apresentou níveis de vitamina A até 113 vezes maiores que os melões amarelos. Neste estudo os teores de vitamina A foram 163 vezes superiores (Tabela 13) para o melão Cantaloupe em relação ao melão Amarelo.

Avaliando o conteúdo de pró-vitamina A de melões Cantaloupe e Honeydew produzidos na Califórnia e importados, Laur & Tian (2011) encontraram teores de β -caroteno de 2,45 e 3,14 mg 100 g⁻¹ para duas variedades americanas do melão Cantaloupe, 3,63 e 3,86 mg 100 g⁻¹ para uma variedade proveniente de Honduras e outra da Guatemala, respectivamente, e para quatro variedades americanas do melão Honeydew encontraram teores de β -caroteno variando de 109,1 a 124,1 μ g 100 g⁻¹ e valores de 99,0 μ g 100 g⁻¹ para uma variedade hondurenha e 172,9 μ g 100 g⁻¹ para outra mexicana.

Tabela 13. Concentração de equivalente de vitamina A em polpas e cascas de melões

	Vitamina A expressa em UI 100 g ⁻¹			
	Polpas		Cascas	
	Base seca	Base úmida	Base seca	Base úmida
Cantaloupe	16765 ± 744 ^a	1261 ± 56 ^a	7274 ± 405 ^a	592 ± 33 ^a
Orange*	15710 ± 559 ^a	1181 ± 42 ^a	2534 ± 64 ^c	167 ± 4 ^c
Gália	97 ± 9 ^b	6 ± 1 ^b	169 ± 14 ^d	11 ± 1 ^d
Amarelo	103 ± 13 ^b	8 ± 1 ^b	53 ± 1 ^d	5 ± 0 ^d
Verde**	72 ± 6 ^b	5 ± 0 ^b	4400 ± 55 ^b	363 ± 5 ^b
Matisse	33 ± 4 ^b	2 ± 0 ^b	58 ± 4 ^d	4 ± 0 ^d

Resultados expressos como média ± desvio padrão das análises em triplicata. Médias seguidas por uma mesma letra na mesma coluna não diferem significativamente entre si pelo teste de Tukey ($p < 0,05$). UI = Unidade Internacional. *Orange Honeydew, **Verde (Pele de Sapo).

Concurso et al. (2012), relataram em estudo sobre o conteúdo de carotenóides em melões enxertados cultivados na Itália concentração de β -caroteno variando entre 6,25 a 117,69 mg kg⁻¹. Os autores concluíram que estas variações nos teores de carotenóides podem ser atribuídas a diferentes localidades de cultivos, sob diferentes condições de solo e ainda tempos diferentes das colheitas.

As variedades norte-americanas, segundo Navazjo (1994) mostraram teores de carotenóides totais que variaram de 1mg g⁻¹ (frutos de polpa verde) até 31mg g⁻¹ (frutos de polpa laranja). Estas características evidenciam também que as cascas dos melões Cantaloupe e Orange quando comparadas às polpas dos seus frutos, apresentaram quantidades de beta caroteno, vitamina A e carotenóides totais bastante inferiores principalmente o melão Orange.

Já a casca do melão Pele de Sapo de coloração verde escura apresentou em relação à sua polpa, concentração superior de β -caroteno (polpa: 0,01 mg 100 g⁻¹ e casca: 0,65 mg 100 g⁻¹), assim como para os carotenóides totais os valores encontrados 0,05 mg 100 g⁻¹ e 5,87 mg 100 g⁻¹ para polpa e casca, respectivamente; os altos valores podem estar relacionados a intensa cor verde da casca do melão, em geral os vegetais de cores verdes escuras apresentam em sua composição elevados níveis de β -caroteno e clorofila.

5.3. Compostos fenólicos totais pelo método de Folin Ciocalteu

Os melões estudados apresentaram maiores teores de polifenóis totais (Tabela 14), quando comparados aos valores obtidos por Barreto (2011) em seu estudo sobre qualidade de compostos bioativos e capacidade antioxidante de híbridos comerciais de meloeiro cultivado no Rio Grande do Norte e Ceará. Os valores máximos nos híbridos Cantaloupe ‘Caribbean Gold’ e ‘Caribbean Pérola’, foram de 0,20 e 0,19 g de ácido gálico equivalente (GAE) 100 g⁻¹, respectivamente, contra 0,30 g (EAG) 100 g⁻¹ para o melão Cantaloupe deste estudo.

O melão Orange apresentou neste estudo 0,33 g (GAE) 100 g⁻¹ enquanto o valor observado por BARRETO (2011) para o híbrido ‘Orange Flesh’ foi 0,09 g GAE 100 g⁻¹, além dos valores médios de compostos fenólicos nos frutos do melão Pele de Sapo de 0,12 a 0,14 g GAE 100 g⁻¹ e de 0,11 a 0,13 g GAE 100 g⁻¹ nos híbridos dos melões Amarelo, foram abaixo dos encontrados neste estudo para os respectivos tipos de melões, em base seca.

Tabela 14. Concentração de compostos fenólicos de polpas e cascas de melões

	Compostos fenólicos totais expressos em mg de ácido gálico (GAE) 100 g ⁻¹			
	Polpas		Cascas	
	Base seca	Base úmida	Base seca	Base úmida
Cantaloupe	304,1 ± 12,4 ^{ab}	25,5 ± 1,0 ^a	429,1 ± 17,0 ^e	34,9 ± 1,4 ^d
Orange*	334,2 ± 10,2 ^a	22,6 ± 0,7 ^b	529,0 ± 22,8 ^{cd}	34,8 ± 1,5 ^d
Gália	256,3 ± 8,3 ^{cd}	16,6 ± 0,5 ^c	480,4 ± 3,2 ^{de}	31,2 ± 0,2 ^d
Amarelo	247,7 ± 16,9 ^d	18,6 ± 1,3 ^c	549,2 ± 15,9 ^c	46,6 ± 1,3 ^c
Verde**	264,2 ± 9,3 ^{cd}	17,2 ± 0,6 ^c	713,8 ± 4,0 ^b	58,9 ± 0,3 ^b
Matisse	279,1 ± 9,6 ^{bc}	25,6 ± 0,9 ^a	1047,9 ± 36,2 ^a	67,4 ± 2,3 ^a

Resultados expressos como média ± desvio padrão das análises em triplicata. Médias seguidas por uma mesma letra na mesma coluna não diferem significativamente entre si pelo teste de Tukey ($p < 0,05$). GAE: Equivalente de Ácido Gálico; *Orange Honeydew, **Verde (Pele de Sapo).

Ismail et al. (2010) determinaram o teor de fenólicos e atividade antioxidante dos extratos metanólicos de diferentes partes liofilizadas da fruta de melão tipo Cantaloupe, e observaram valor de 1,68 mg GAE g⁻¹ para a polpa, valor inferior à polpa do melão Cantaloupe encontrado neste estudo (0,30 g GAE 100 g⁻¹). O mesmo não se aplica à casca que apresentou valor superior (4,70 mg GAE g⁻¹) contra (0,43 g GAE 100g⁻¹) para a casca do melão Cantaloupe deste estudo.

Neste estudo a faixa com teores de fenólicos totais pode ser considerada o dobro (0,17 a 0,26 g GAE 100g⁻¹) dos valores reportados por Kolayli et al. (2010) no trabalho desenvolvido na Turquia com diferentes cultivares de melão, onde os teores de fenólicos totais compreenderam a faixa de 0,092 a 0,115 g GAE 100g⁻¹ para a polpa fresca.

Salandanan et al. (2009) em análise comparativa de propriedades antioxidantes e atributos de qualidade para frutos de melões de cultivo orgânico e convencional encontraram valores de fenólicos totais para dois híbridos de melão Gália cultivo convencional de 41,7 e 40,5 mg GAE 100g⁻¹ e cultivo orgânico de 44,7 e 52,3 mg GAE 100g⁻¹, para dois híbridos de melão Cantaloupe cultivo convencional de 59,2 e 61,0 mg GAE 100g⁻¹ e cultivo orgânico de 63,5 e 69,5 mg GAE 100g⁻¹ e para o híbrido do melão Honeydew cultivo convencional e orgânico de 51,8 e 69,7 mg GAE 100g⁻¹, respectivamente, demonstrando assim, que os melões orgânicos apresentaram quantidades de compostos fenólicos superiores aos melões de cultivo convencional. Possivelmente, esta diferença pode ser atribuída à influência do sistema de produção sobre os atributos antioxidantes, o que possivelmente interfere na composição química da planta, a qual não teve influência de aditivos químicos como fertilizante durante sua cadeia produtiva. Já no estudo de Nickel et al. (2015) os autores reportaram que a forma de cultivo afetou o nível de vitamina C nas frutas avaliadas, onde as de cultivo orgânico apresentou teor de vitamina C superior ao cultivo convencional. Os autores atribuíram as diferenças à fertilidade do solo, a qual pode afetar o metabolismo das plantas, e promover diferenças na composição e na qualidade nutricional das mesmas.

Wu et al. (2004) ao avaliar diversos alimentos que estão sendo consumidos pela população dos EUA, observaram conteúdos de polifenóis totais de 0,07 e 0,12 g 100 g⁻¹ de polpa em base fresca para os melões do tipo Honeydew e Cantaloupe, respectivamente. Prado (2009), em seu estudo sobre composição fenólica e atividade antioxidante em frutas tropicais encontrou valor de 1,26 mg GAE g⁻¹ para polpa de melão. Em estudo para determinar a capacidade total e conteúdo de fenólicos totais de 62 frutas, Fu et al. (2011) encontraram para o melão Cantaloupe 31,50 mg GAE 100 g⁻¹ para o conteúdo de fenólicos totais. Mallek-Ayadi et al. (2017) reportaram no estudo de caracterização, compostos fenólicos e propriedades funcionais de cascas de *Cucumis melo* L. (variedade maazoun) o valor de 332 mg GAE 100 g⁻¹ de extrato para o conteúdo de polifenóis totais.

De acordo com Melo et al. (2008), as frutas, principais fontes dietéticas de polifenóis, em função de fatores intrínsecos (cultivar, variedade, estágio de maturação) e extrínsecos (condições climáticas e edáficas) apresentam, em termos quantitativos e qualitativos, composição variada desses constituintes.

Fatores diversos podem alterar o conteúdo dos compostos fenólicos, como a composição química da fruta que pode sofrer alteração de acordo com as etapas de crescimento e as condições do processamento. Além disso, as diferentes regiões geográficas que o alimento está inserido e o período do ano em que a fruta é coletada e analisada podem alterar não apenas a quantidade, como também os diferentes tipos de compostos fenólicos identificados, o que explicaria as diferenças de resultados encontrados na literatura (GONÇALVES et al., 2014).

Morais et al. (2015) ao avaliarem diferentes partes (polpas, sementes e cascas) de sete frutas tropicais (abacate, abacaxi, banana, papaia, maracujá, melancia e melão) encontraram teores de 313,45 mg GAE 100g⁻¹ e 357,80 mg GAE 100g⁻¹ de fenólicos totais para a polpa e casca de melão, respectivamente e concluíram que cascas e sementes de frutas têm maior capacidade antioxidante e compostos antioxidantes que suas polpas.

Todas as cascas dos melões deste estudo apresentaram conteúdo de compostos fenólicos totais superiores às suas polpas, confirmando que as cascas de frutas são boas fontes de compostos antioxidantes. No estudo de Moo-Huchin et al. (2014) sobre compostos antioxidantes, atividade antioxidante e conteúdo de compostos fenólicos em casca de três frutas tropicais, os autores reportaram uma quantidade substancial de compostos bioativos em suas polpas e cascas. Os autores enfatizaram a importância do aproveitamento de resíduos como, por exemplo, as cascas como potencial ingrediente que podem ser empregados em formulação de produtos nas indústrias alimentícia, cosmética, farmacêutica e química.

Os compostos fenólicos reagem com a solução de Folin-Ciocalteu em condições básicas por meio de mecanismo de transferência de elétrons, porém o reagente de Folin-Ciocalteu não é específico apenas para compostos fenólicos, portanto, pode ser reduzido por outros compostos não fenólicos, a exemplo da vitamina C (HUANG et al., 2005; SANCHEZ-RANGEL et al., 2013) e açúcares redutores, levando à superestimação dos resultados (MAGALHÃES et al., 2008; OLIVEIRA et al., 2009; SANCHEZ-RANGEL et al., 2013).

Para diminuir esses interferentes, alguns autores sugerem estratégias como melhorar a especificidade do método de determinação de compostos fenólicos totais (SANCHEZ-RANGEL et al., 2013), a purificação parcial dos extratos fenólicos por extração em fase sólida – SPE (ISABELLE et al., 2010; SANCHEZ-RANGEL et al., 2013).

Nos trabalhos científicos utilizados para comparar aos resultados encontrados nesse estudo, os autores não mencionaram o uso de técnicas para minimizar os interferentes antes de quantificar os compostos fenólicos totais, porém os valores reportados por estes autores são inferiores aos encontrados neste estudo.

Os resultados sugerem que outros compostos (vitamina C e açúcares redutores) podem ter contribuído para o aumento do teor de fenólico. Neste estudo não foram quantificados os teores de açúcares redutores e de vitamina C, porém a base de dados *Frida Food Data* (2017) reportaram teor de ácido ascórbico para o melão Honeydew (10,2 mg 100 g⁻¹) e para o Cantaloupe (24,8 mg 100 g⁻¹), e os teores de açúcares redutores para o melão Honeydew, frutose (1,48 g 100 g⁻¹) e glicose (1,35 g 100 g⁻¹).

Os resultados podem sugerir a contribuição de substâncias interferentes para o aumento do valor de compostos fenólicos, portanto, neste estudo pode ser considerada que foi avaliada a capacidade redutora do Folin-Ciocalteu.

5.4. Atividade antioxidante

5.4.1. Método DPPH

O método DPPH consiste em avaliar a capacidade antioxidante e tem como princípio a transferência de elétrons de um composto antioxidante para um oxidante, onde a reação é observada pela mudança de cor púrpura do radical DPPH• (2,2-difenil-1-picril-hidrazil) que é reduzido à DPPH-H para o cromóforo amarelo e quantificado pelo decréscimo da absorbância medida em espectrofotômetro (BRAND-WILLIAMS et al., 1995).

A partir dos resultados obtidos determina-se a porcentagem de atividade antioxidante ou sequestradora de radicais livres e/ou porcentagem de DPPH remanescente no meio reacional que correspondem à quantidade de DPPH consumida pelo antioxidante, sendo que a quantidade de antioxidante necessária

para decrescer a concentração inicial de DPPH em 50% é denominada concentração eficiente (EC_{50}) ou concentração inibitória (IC_{50}). Quanto maior o consumo de DPPH por uma amostra, menor será a sua EC_{50} e maior a sua atividade antioxidante (SOUSA et al., 2007). Deste modo, para expressar a concentração em EC_{50} depende da concentração inicial de DPPH•.

As menores concentrações dos extratos das polpas necessárias para reduzir em 50% o radical DPPH• foram referentes aos extratos dos melões Cantaloupe e Matisse com 60,7 e 68,1 mg mL⁻¹, respectivamente, e a maior concentração foi obtida do melão Amarelo 100,6 mg mL⁻¹ (Tabela 15).

As cascas de todos os tipos de melões apresentaram atividade antioxidante superior às polpas dos seus frutos (Tabela 15). O melão Cantaloupe apresentou a menor variação entre sua polpa e casca com valores 60,6 e 49,0 mg mL⁻¹, respectivamente, e o melão Matisse apresentou a maior variação de atividade antioxidante entre a polpa (68,1 mg mL⁻¹) e a casca (7,3 mg mL⁻¹), demonstrando que a capacidade antioxidante de uma amostra está relacionada com a quantidade de compostos fenólicos presentes, já que o Matisse foi a variedade que apresentou maiores níveis de compostos fenólicos tanto na polpa in natura quanto na casca 25,6 e 67,4 mg de ácido gálico (GAE) 100g⁻¹, respectivamente, porém não apresentou diferença estatística ($p < 0,05$) para a polpa em relação ao Cantaloupe.

Ismail et al. (2010) com o objetivo de determinarem o teor de fenólicos e atividades antioxidantes dos extratos metanólicos de diferentes partes da fruta liofilizada de melão tipo Cantaloupe, observaram valores de EC_{50} para a polpa de 11,9 e para a casca de 9,58 mg mL⁻¹, valores bastante inferiores aos encontrados neste trabalho (Tabela 15), demonstrando melhor capacidade antioxidante dos seus extratos metanólicos em relação aos obtidos neste estudo para o melão Cantaloupe.

Morais et al. (2015) em estudo sobre atividade antioxidante, fenólicos e análise por UPLC-ESI(-)-MS de diferentes partes de frutas tropicais e cascas processadas, encontraram valores de EC_{50} dos extratos da polpa e casca de melão de 814,24 µg mL⁻¹ e 357,80 µg mL⁻¹, respectivamente, demonstrando maior atividade antioxidante da casca do melão.

Tabela 15. Capacidade antioxidante total de polpas e cascas determinada pelo método DPPH

	Atividade antioxidante – DPPH – EC ₅₀ (mg mL ⁻¹)			
	Polpas		Cascas	
	Base seca	Base úmida	Base seca	Base úmida
Cantaloupe	60,7 ± 1,3 ^f	4,6 ± 0,1 ^d	49,0 ± 1,1 ^a	4,0 ± 0,1 ^a
Orange*	79,6 ± 0,5 ^c	5,4 ± 0,1 ^c	29,5 ± 1,0 ^c	1,9 ± 0,1 ^c
Gália	73,6 ± 2,3 ^d	4,8 ± 0,2 ^d	35,8 ± 1,5 ^b	2,3 ± 0,1 ^b
Amarelo	100,6 ± 1,7 ^a	7,6 ± 0,1 ^a	24,5 ± 0,9 ^d	2,1 ± 0,1 ^c
Verde**	86,2 ± 3,5 ^b	5,6 ± 0,2 ^c	23,6 ± 0,8 ^d	1,9 ± 0,1 ^c
Matisse	68,1 ± 2,1 ^e	6,2 ± 0,2 ^b	7,3 ± 0,3 ^e	0,5 ± 0,02 ^d

Resultados expressos como média ± desvio padrão das análises em triplicata. Médias seguidas por uma mesma letra na mesma coluna não diferem significativamente entre si pelo teste de Tukey ($p < 0,05$). EC₅₀: concentração eficiente. *Orange Honeydew, **Verde (Pele de Sapo).

Em estudo apresentado por Barreto (2011) sobre híbridos de meloeiro cultivados no Ceará e Rio Grande do Norte foi encontrado valores de 2,58 mg mL⁻¹ para um híbrido do melão Cantaloupe e valores próximos de 5,0 mg mL⁻¹ para os demais híbridos do mesmo melão. Dentre os melões do tipo Gália, apenas um híbrido apresentou valor de EC₅₀ próximo de 10,00 mg mL⁻¹, as demais cultivares variaram de 4,90 mg mL⁻¹ a 5,45 mg mL⁻¹. O melão Honeydew apresentou valor similar aos observados nos melões do tipo Gália, cerca de 5 mg mL⁻¹, conseqüentemente, melhor atividade antioxidante em relação às polpas dos melões estudadas neste trabalho. Os melões Pele de Sapo exibiram valores de EC₅₀ (> 10,00 mg mL⁻¹) e a maioria dos híbridos do melão Amarelo apresentaram valores próximos de 10,00 mg mL⁻¹. Prado (2009), em seu estudo sobre composição fenólica e atividade antioxidante em frutas tropicais encontrou valor de EC₅₀ 6,14 mg mL⁻¹ para melão.

Oliveira et al. (2009) relataram que a atividade antioxidante de compostos bioativos em alimentos de origem vegetal depende de vários fatores como a estrutura dos compostos e suas concentrações no alimento.

Além disso, a quantidade destes compostos nos vegetais é muito influenciada por fatores genéticos e condições ambientais, e ainda, pelo grau de maturação e variedade da planta. A capacidade antioxidante também é influenciada pelo substrato utilizado no ensaio, pelo solvente e pela técnica de extração, bem como pelos fatores tempo e temperatura. O método pelo sequestro do radical DPPH apresenta limitações, pois depende da habilidade dos antioxidantes presentes na

amostra ligarem-se ao radical, sendo que a interação do potencial antioxidante depende também da conformação estrutural do antioxidante com o radical DPPH[•] (Brand-Williams et al., 1995). Schaich et al. (2015) em seu estudo reforçam tratar-se dos efeitos do impedimento estérico ao DPPH.

Xie & Schaich (2014) apontaram ainda mais falhas, quando afirmaram que as reações de DPPH são altamente sensíveis ao ambiente reacional, isto é, sensíveis à água e solvente, ao pH, oxigênio e a exposição à luz. Considerando todos os parâmetros que podem interferir na avaliação da capacidade antioxidante sobre o método DPPH, reforça-se a importância da realização de um segundo teste de atividade antioxidante. Neste estudo foi utilizado também o método ORAC.

5.4.2. Método ORAC

O método está fundamentado no decaimento da fluorescência emitida pela fluoresceína, através do ataque da espécie reativa, o radical peroxila. Após a adição da espécie redutora, o antioxidante presente na amostra, observa-se um menor decaimento da fluorescência. Isto significa que a fluoresceína permanece protegida e o antioxidante é atacado pelas espécies reativas presentes no meio (MAGALHÃES et al., 2008). Desta forma, o método ORAC apresenta algumas vantagens ao ter o princípio do ensaio baseado na fluorescência e não na absorbância, reduzindo interferências dos compostos coloridos presentes nas amostras. A automação do método (sonda), as condições de realização do mesmo com pH e temperatura fisiológicos são mais vantajosos (PRIOR et al., 2003; DÁVALOS et al., 2004). Este método é mais relevante na capacidade antioxidante de interromper a cadeia da reação de oxidação (HUANG et al., 2005).

No presente estudo as polpas dos melões Amarelo, Verde e Cantaloupe não apresentaram diferença estatística ($p < 0,05$) para a atividade antioxidante hidrofílica pelo método ORAC (Tabela 16) com valores de 191,0; 189,8 e 187,3 $\mu\text{M ET } 100 \text{ g}^{-1}$, respectivamente. Porém, entre os melões Orange (142 $\mu\text{M ET } 100 \text{ g}^{-1}$), Matisse (89 $\mu\text{M ET } 100 \text{ g}^{-1}$) e Gália (14 $\mu\text{M ET } 100 \text{ g}^{-1}$) os resultados apresentaram diferença estatística ($p < 0,05$).

Todas as cascas dos melões apresentaram capacidade antioxidante superior às suas polpas (Tabela 16), com ênfase para a polpa do melão Matisse, que assim

como no ensaio pelo método DPPH, também apresentou atividade antioxidante bastante superior ($423,7 \mu\text{M ET } 100 \text{ g}^{-1}$) em relação aos outros tipos estudados.

Tabela 16. Capacidade antioxidante total de polpas e cascas determinada pelo método ORAC

	Atividade antioxidante – ORAC ($\mu\text{M ET } 100 \text{ g}^{-1}$)			
	Polpas		Cascas	
	Base seca	Base úmida	Base seca	Base úmida
Cantaloupe	$187,3 \pm 0,1^a$	$14,1 \pm 0,01^a$	$245,5 \pm 0,1^b$	$20,0 \pm 0^b$
Orange*	$141,9 \pm 0,1^b$	$10,7 \pm 0,01^b$	$173,2 \pm 0,2^b$	$11,4 \pm 0,02^c$
Gália	$14,2 \pm 0,01^d$	$1,0 \pm 0,01^d$	$83,6 \pm 0,1^c$	$5,5 \pm 0,1^c$
Amarelo	$191,0 \pm 0,2^a$	$14,4 \pm 0,02^a$	$249,1 \pm 0,5^b$	$21,1 \pm 0,1^b$
Verde**	$89,8 \pm 0,1^c$	$14,3 \pm 0,01^a$	$359,5 \pm 0,1^a$	$29,7 \pm 0,1^a$
Matisse	$89,2 \pm 0,1^c$	$6,7 \pm 0,01^c$	$423,7 \pm 0,8^a$	$27,3 \pm 0,1^d$

Resultados expressos como média $\pm$ desvio padrão das análises em triplicata. Médias seguidas por uma mesma letra na mesma coluna não diferem significativamente entre si pelo teste de Tukey ($p < 0,05$). ORAC: *Oxygen-Radical Absorbancy Capacity*, ET: Equivalente de Trolox. *Orange Honeydew, **Verde (Pele de Sapo).

Entretanto, os valores da atividade antioxidante obtidos pelo método ORAC neste estudo, foram inferiores aos valores encontrados por Barreto (2011) em híbridos de meloeiro cultivados no Ceará e Rio Grande do Norte, onde valores variaram de $485,17$ a $725,69 \mu\text{M ET } 100 \text{ g}^{-1}$ para os melões Cantaloupe, já para os melões Amarelo a variação foi de $324,93$ a $498,31 \mu\text{M ET } 100 \text{ g}^{-1}$. O melão Honeydew apresentou valor inferior de $292,36 \mu\text{M ET } 100 \text{ g}^{-1}$. Os melões Pele de Sapo apresentaram valores de $358,55$ a $434,20 \mu\text{M ET } 100 \text{ g}^{-1}$ e os melões Gália, valores de $307,59$ a $555,07 \mu\text{M ET } 100 \text{ g}^{-1}$, mostrando haver variação bastante pronunciada entre os híbridos da mesma variedade, porém todos os valores foram superiores aos encontrados neste estudo.

Já Mikami et al. (2009) obtiveram em pesquisa realizada no Japão com onze diferentes frutas locais valores da capacidade antioxidante de $194 \mu\text{M ET } 100 \text{ g}^{-1}$ para do melão Cantaloupe, o qual pode ser considerado similar ao presente estudo para a mesma variedade ($187,3 \mu\text{M ET } 100 \text{ g}^{-1}$).

Wolbang et al. (2010) estudando diferentes cultivares da variedade Honeydew observaram atividade antioxidante variando de 200 a $310 \mu\text{M ET } 100 \text{ g}^{-1}$, demonstrando que as cultivares apresentaram atividade antioxidante superior à mesma cultivar avaliada nesse estudo ($141,9 \mu\text{M ET } 100 \text{ g}^{-1}$).

Pode ser observado que o melão Amarelo apresentou a menor atividade antioxidante pelo método DPPH (Tabela 15), porém pelo método ORAC (Tabela 16), a sua atividade antioxidante foi a maior. Comportamento semelhante foi observado para o melão Verde com a segunda menor atividade antioxidante pelo método DPPH e o segundo melhor resultado para o método ORAC.

Já o melão Cantaloupe apresentou desempenho semelhante na análise com DPPH e também no método ORAC. Os melões Matisse e Gália, ao contrário, apresentaram atividade antioxidante superiores pelo método DPPH, indicando possíveis interações com outros compostos presentes na amostra, uma vez que extratos vegetais são misturas complexas de muitas substâncias com atividades distintas como ácido ascórbico e pigmentos.

Estudos complementares são necessários para se verificar a relação sinérgica ou antagônica entre os diferentes antioxidantes presentes no melão para se compreender melhor os mecanismos de ação antioxidante. Nos últimos anos muitas críticas (APAK et al., 2013; FORMAN et al., 2014; SCHAICH et al., 2015) têm sido apontadas aos métodos *in vitro* para medir a capacidade de eliminação de radicais dos compostos naturais, chamando a atenção para a importância de estudar ainda mais o poder antioxidante com a necessidade de avaliação antioxidante *in vivo*.

Apak et al. (2013) afirmaram que os ensaios que avaliam a capacidade antioxidante apresentam muitas limitações tanto conceituais como técnicas.

Antioxidantes presentes em frutas e vegetais (β -caroteno, carotenoides, compostos fenólicos, glutathiona) têm contribuído com efeitos biológicos associados a potenciais benefícios à saúde.

5.5. Resultados da Determinação da GSH

5.5.1. Curva padrão da GSH

A curva padrão foi elaborada com seis níveis de concentração. A curva de calibração (Figura 15) de GSH, baseada na equação da reta ($y = ax + b$) apresentou $R^2 = 0,9968$. Sendo que, este valor pode ser considerado um indicativo da qualidade da curva analítica, linear dentro da faixa de concentração utilizada.

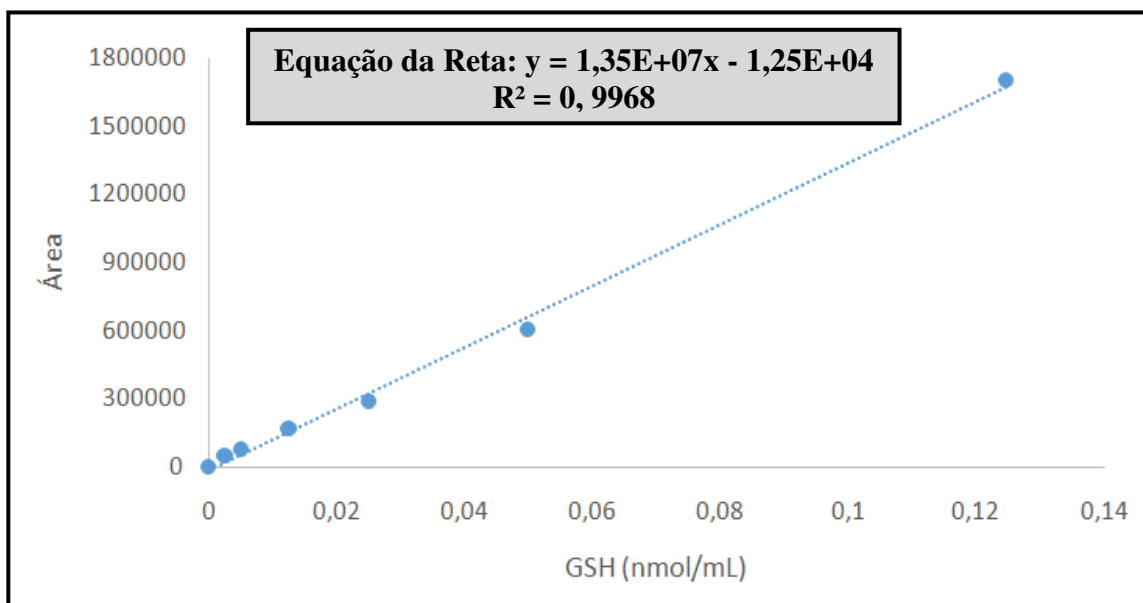


Figura 15. Curva analítica padrão de GSH obtida por CLAE-FD: ($\lambda_{\text{excitação}}$: 340 nm, $\lambda_{\text{emissão}}$: 420 nm); Coluna: C18 (150 x 4,6mm, 3 μ m, Prevail™). Fase Móvel: (A) acetato de sódio 0,15 mol L⁻¹, pH 7,0; (B) metanol; (C) água. A análise foi realizada com vazão de 0,5 mL min⁻¹. O gradiente utilizado foi de 100% de A por 15 min, 90% de A e 10% de B por 10 min, 100% de C por 15 min, 100% B por 15 min, 100% de C por 10 min, e 100% de A por 10 min.; volume injetado: 20 μ L.

Os cromatogramas dos padrões injetados foram integrados utilizando o software do computador acoplado ao equipamento, obtendo, assim, as áreas dos picos em cada concentração da GSH. Na Figura 16 pode ser observado um dos cromatogramas obtidos na análise do padrão de GSH.

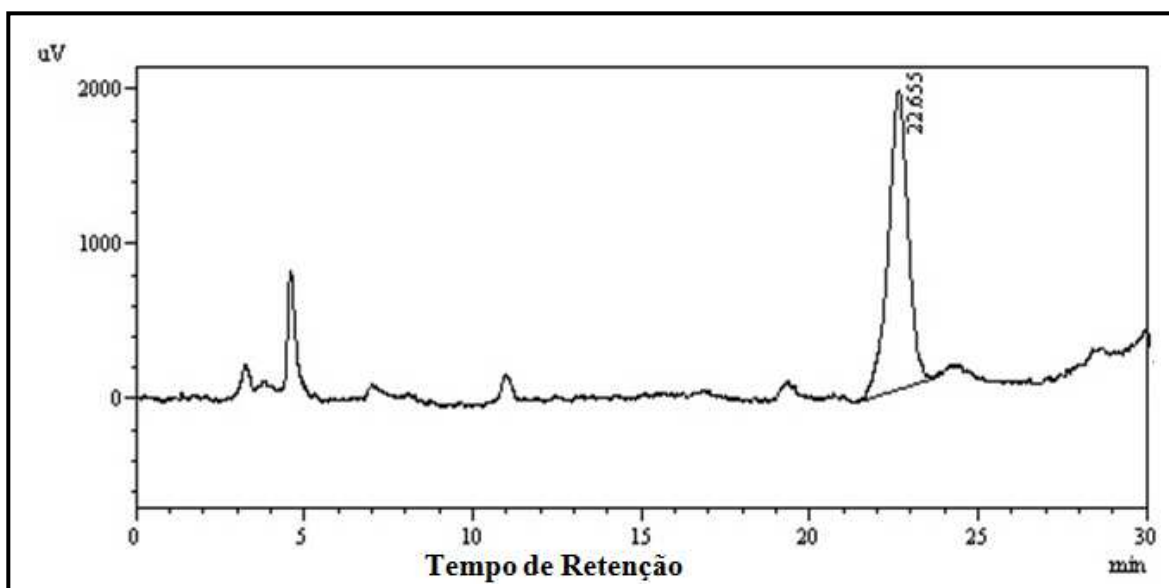


Figura 16. Cromatograma obtido na análise do padrão de GSH ($1,25 \times 10^{-2}$ nmol mL⁻¹), CLAE-FD: ($\lambda_{\text{excitação}}$: 340 nm, $\lambda_{\text{emissão}}$: 420 nm); Coluna: C18 (150 x 4,6mm, 3 μ m, Prevail™). Fase Móvel: (A) acetato de sódio 0,15 mol L⁻¹, pH 7,0; (B) metanol; (C) água. A análise foi realizada com vazão de 0,5 mL min⁻¹. O gradiente utilizado foi de 100% de A por 15 min, 90% de A e 10% de B por 10 min, 100% de C por 15 min, 100% B por 15 min, 100% de C por 10 min, e 100% de A por 10 min.; volume injetado: 20 μ L.

5.5.2. Limites de detecção e quantificação

O limite de quantificação (LOQ) foi considerado o menor ponto da curva analítica GSH ($2,49 \times 10^{-3}$ nmol mL⁻¹) e o limite de detecção (LOD) foi o equivalente a ($8,32 \times 10^{-4}$ nmol mL⁻¹), três vezes menor que o limite de quantificação. Para efeito de comparação com os valores encontrados neste estudo na Tabela 17 estão reportados alguns valores de LOQ e LOD encontrados na literatura (SAETRE et al., 1978; SUTARIYA et al., 2012; GAWLIK et al., 2014).

O método proposto demonstrou alta sensibilidade, apresentando limites de detecção e quantificação menores (abaixo) dos valores apresentados pelos demais autores da tabela de comparação.

Tabela 17. Comparação dos limites de detecção e quantificação do método desenvolvido e os reportados na literatura para o analito GSH.

Detector	Produto	Derivatizante	LOD	LOQ	Referência
Fluorescência	Melão	OPA	$8,32 \times 10^{-4}$ nmol mL⁻¹	$2,49 \times 10^{-3}$ nmol mL⁻¹	Método proposto
Fluorescência	Estriado de Rato	OPA	$2,7 \times 10^{-3}$ nmol mL ⁻¹	$8,2 \times 10^{-3}$ nmol mL ⁻¹	Gawlik et al. (2014)
UV-Vis	Formulação Farmacêutica	-	$1,5$ nmol mL ⁻¹	$5,9$ nmol mL ⁻¹	Sutariya et al. (2012)
Eletroquímico	Sucos de Frutas	-	$2,0$ nmol mL ⁻¹	-	Saetre et al. (1978)

LOD – limite de detecção; LOQ – limite de quantificação; Peso molecular da GSH = 307,33g

5.5.3. Análise de recuperação - Exatidão

A análise de recuperação foi efetuada pela adição do padrão de GSH aos extratos liofilizados da polpa e casca do melão Cantaloupe com o objetivo de mensurar a eficiência do procedimento do método analítico, considerando que uma recuperação adequada deve estar próxima de 100%. O resultado da polpa está apresentado na Tabela 18, e da casca na Tabela 19. Três repetições foram adicionadas a três níveis diferentes de concentração e as amostras foram extraídas no mesmo dia (intra-dia).

Tabela 18. Recuperação obtida para glutathiona reduzida (GSH) analisando a polpa do melão Cantaloupe.

Analito	Quantidade Adicionada (nmol g ⁻¹)	Quantidade encontrada $\pm$ DP (nmol g ⁻¹)	Recuperação (%)
Glutathiona	0	$4,32 \pm 0,31$	-
	1,00	$5,15 \pm 0,20$	96,80
GSH	2,00	$7,08 \pm 0,40$	111,96
	3,00	$7,43 \pm 0,35$	101,53

Resultados expressos como média $\pm$ desvio padrão.

São limitados os dados na literatura sobre quantificação de glutathiona em frutas, principalmente melão, quando comparados a dados sobre quantificação de glutathiona em amostras biológicas. Concentrações de GSH e GSSG em alguns alimentos reportados na literatura indicam que vegetais crus, frutas, carnes recém

preparadas e algumas especiarias apresentam alto teor de GSH (JONES et al., 1992; DEMIRKOL et al., 2004; MANDA et al., 2010).

Tabela 19. Recuperação obtida para glutathiona reduzida (GSH) analisando a casca do melão Cantaloupe.

Analito	Quantidade Adicionada (nmol g ⁻¹)	Quantidade encontrada ± DP (nmol g ⁻¹)	Recuperação (%)
GSH	0	3,67 ± 0,30	-
	1,00	4,45 ± 0,70	95,29
	2,00	5,91 ± 0,18	104,23
	3,00	7,75 ± 0,47	116,19

Resultados expressos como média ± desvio padrão.

Na Figura 17 está apresentado o cromatograma referente a polpa do melão Cantaloupe adicionada do padrão de GSH na concentração de ($1,25 \times 10^{-2}$ nmol mL⁻¹).

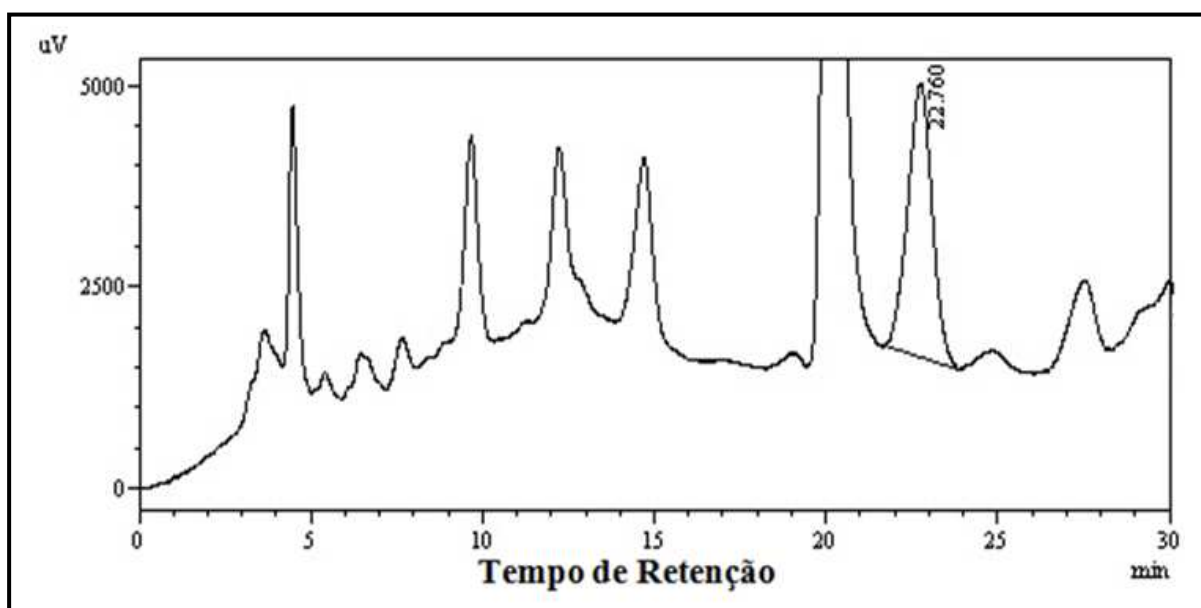


Figura 17. Cromatograma da polpa liofilizada do melão Cantaloupe + padrão GSH ($1,25 \times 10^{-2}$ nmol mL⁻¹), por CLAE-FD: ($\lambda_{\text{excitação}}$: 340 nm, $\lambda_{\text{emissão}}$: 420 nm); Coluna: C18 (150 x 4,6mm, 3 μ m, PrevailTM). Fase Móvel: (A) acetato de sódio 0,15 mol L⁻¹, pH 7,0; (B) metanol; (C) água. A análise foi realizada com vazão de 0,5 mL min⁻¹. O gradiente utilizado foi de 100% de A por 15 min, 90% de A e 10% de B por 10 min, 100% de C por 15 min, 100% B por 15min, 100% de C por 10min, e 100% de A por 10min.; volume injetado: 20 μ L.

5.5.4. Resultados dos ensaios de GSH em amostras de melões por CLAE-FD

O procedimento foi baseado no artigo Neuschwander-Tetri (1989), com adaptações. Para tanto, foi utilizado o HCl 10 mmol L⁻¹ para a acidificação na etapa de extração, sendo que a GSH em meio ácido é preservada. De acordo com dados da literatura, as concentrações de tióis caem rapidamente em pH neutro a básicos, promovida pela oxidação da GSH a GSSG. (CAMERA & PICARDO, 2002; PASTORI et al., 2003; MONOSTORI et al., 2009; IWASAKI et al., 2009).

O método apresentou bom desempenho analítico, proporcionando identificação e quantificação da glutathiona reduzida, obtida pela reação do derivatizante OPA com o grupo tiol (-SH) originando o aduto GSH-OPA estável e altamente fluorescente, conforme relatado por Neuschwander-Tetri (1989). Neste estudo serão apresentados somente os cromatogramas referentes a polpa e casca do melão Cantaloupe, uma vez que o perfil cromatográfico dos demais frutos envolvidos neste estudo não tiveram diferenças gráficas para sua representação. A Figura 18 mostra o cromatograma referente a polpa do melão Cantaloupe. Na sequência pode ser observado o cromatograma obtido para a casca do melão Cantaloupe (Figura 19). O detector de fluorescência apresentou alta sensibilidade e especificidade na identificação e quantificação do derivado tricíclico (1-alquiltiol-2-alquilisoindol) formado de alta estabilidade (PARONI et al., 1995; GAWLIK et al., 2014).

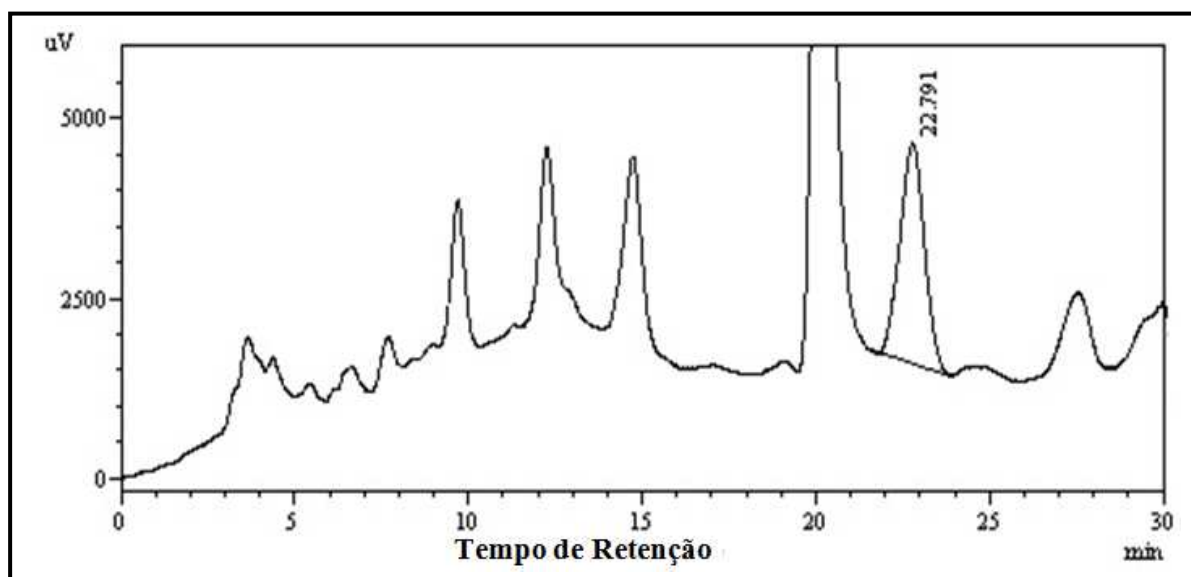


Figura 18. Cromatograma da polpa liofilizada do melão Cantaloupe por CLAE-FD: ($\lambda_{\text{excitação}}$: 340 nm, $\lambda_{\text{emissão}}$: 420 nm); Coluna: C18 (150 x 4,6mm, 3 μ m, PrevailTM). Fase Móvel: (A) acetato de sódio 0,15 mol L⁻¹, pH 7,0; (B) metanol; (C) água. A análise foi realizada com vazão de 0,5 mL min⁻¹. O gradiente utilizado foi de 100% de A por 15 min, 90% de A e 10% de B por 10 min, 100% de C por 15 min, 100% B por 15min, 100% de C por 10min, e 100% de A por 10 min.; volume injetado: 20 μ L.

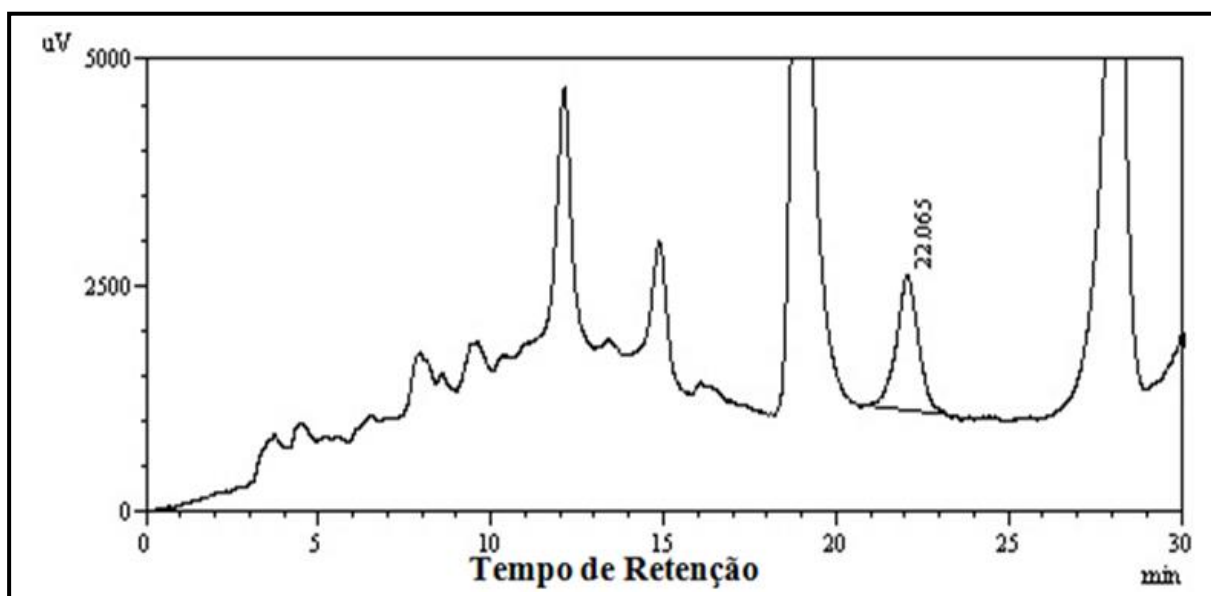


Figura 19. Cromatograma da casca liofilizada por CLAE-FD: ($\lambda_{\text{excitação}}$: 340 nm, $\lambda_{\text{emissão}}$: 420 nm); Coluna: C18 (150 x 4,6mm, 3 μ m, Prevail™). Fase Móvel: (A) acetato de sódio 0,15 mol L⁻¹, pH 7,0; (B) metanol; (C) água. A análise foi realizada com vazão de 0,5 mL min⁻¹. O gradiente utilizado foi de 100% de A por 15 min, 90% de A e 10% de B por 10 min, 100% de C por 15 min, 100% B por 15min, 100% de C por 10min, e 100% de A por 10min.; volume injetado: 20 μ L.

A análise de GSH foi efetuada em triplicata nas amostras liofilizadas e os resultados estão apresentados em base seca e úmida (Tabela 20). Observa-se que a menor concentração de glutathiona reduzida foi encontrada na polpa do melão Matisse. Sendo que a maiores concentrações foram encontradas nas polpas dos melões Amarelo e Gália. Foi constatado que as polpas em comparação às cascas são mais ricas neste composto bioativo, com exceção do melão Matisse, cuja concentração de GSH na casca foi o dobro da encontrada na polpa.

Os melões Amarelo e Gália, não apresentaram diferença estatística entre si ($p < 0,05$), porém valores da GSH de suas cascas em relação às polpas foram inferiores 23% e 25%, respectivamente. Os mesmos melões (Amarelo e Gália) apresentaram valores superiores com diferenças estatística ($p < 0,05$) em relação aos demais melões. As cascas dos melões Cantaloupe e Matisse não apresentaram diferença estatística entre si ($p < 0,05$), com valores superiores ao demais, exceto o melão verde (Pele de Sapo) que foi igual estatisticamente ao ($p < 0,05$) ao Matisse.

Tabela 20. Concentração de glutatona reduzida – GSH em amostras liofilizadas maio/2016.

MELÕES (Tipos)	Glutatona reduzida - GSH expressa por nmol g ⁻¹			
	Polpas		Casca	
	Base seca	Base úmida	Base seca	Base úmida
Cantaloupe	4,32 ± 0,31 ^b	0,32 ± 0,02 ^{bc}	3,67 ± 0,30 ^a	0,30 ± 0,03 ^a
Orange*	3,31 ± 0,19 ^c	0,25 ± 0,02 ^c	2,08 ± 0,16 ^c	0,14 ± 0,01 ^c
Gália	5,54 ± 0,14 ^a	0,36 ± 0,01 ^{ab}	1,48 ± 0,09 ^c	0,09 ± 0,01 ^c
Amarelo	6,05 ± 0,40 ^a	0,46 ± 0,03 ^a	1,41 ± 0,07 ^c	0,12 ± 0,01 ^c
Verde**	3,62 ± 0,48 ^{bc}	0,27 ± 0,04 ^c	2,22 ± 0,27 ^{bc}	0,18 ± 0,02 ^b
Matisse	1,52 ± 0,12 ^d	0,11 ± 0,01 ^d	2,98 ± 0,41 ^{ab}	0,19 ± 0,03 ^b

Resultados expressos como média ± desvio padrão das análises em triplicata. Médias seguidas por uma mesma letra na mesma coluna não diferem significativamente entre si pelo teste de Tukey ($p < 0,05$). GSH: glutatona reduzida. *Orange Honeydew, **Verde (Pele de Sapo).

Saetre & Rabenstein (1978) com o estudo sobre determinação de cisteína e glutatona em frutas por CLAE utilizando detector eletroquímico em amostras de tomate, laranja, limão, kiwi, uvas verdes e melão, encontraram concentração de GSH para o melão Cantaloupe de 69 nmol g⁻¹. Jones et al. (1992) em estudo para pesquisa epidemiológica sobre ingestão dietética e risco de câncer investigaram vários alimentos empregando técnica cromatográfica com detecção por UV, e encontraram para o melão Cantaloupe concentração de 61 µg g⁻¹. Os valores diferem do encontrado (4,32 nmol g⁻¹) para o melão Cantaloupe neste estudo, provavelmente em função das diferenças entre as metodologias utilizadas, como extração do analito, colunas analíticas, sistemas de detecção. Além das características climáticas, condições de cultivo, estágio de maturação. Os níveis da GSH também podem ser afetados pelas condições de processamento, armazenamento (JONES, 1995).

Gawlik et al. (2014) determinaram a glutatona reduzida e oxidada em matriz biológica com detecção por fluorescência e derivatização pré-coluna com OPA, os autores reportaram a dificuldade em comparar resultados com a literatura devido a grande variedade de métodos empregados na determinação da GSSG e GSH.

5.5.5. Análise de estabilidade

Foi avaliada a estabilidade da GSH (Tabela 21) nas amostras de melões liofilizadas e armazenadas por 19 meses sob refrigeração, com exceção do melão Matisse que foi adquirido posteriormente.

Tabela 21. Concentração de glutathiona reduzida (GSH) em amostras liofilizadas outubro/2014 e analisadas em junho/2016.

MELÕES (Tipos)	Glutathiona reduzida - GSH (nmol g ⁻¹)	
	Polpas	
	Base seca	Base úmida
Cantaloupe	3,17 ± 0,16 ^{bc}	0,24 ± 0,01 ^b
Orange	2,39 ± 0,61 ^c	0,18 ± 0,05 ^b
Gália	4,20 ± 0,48 ^{ab}	0,27 ± 0,03 ^{ab}
Amarelo	4,77 ± 0,79 ^a	0,36 ± 0,06 ^a
Verde	2,89 ± 0,30 ^c	0,22 ± 0,02 ^b

Resultados expressos como média ± desvio padrão das análises em triplicata. Médias seguidas por uma mesma letra na mesma coluna não diferem significativamente entre si pelo teste de Tukey ($p < 0,05$).

Para efeito de comparação pode ser observado na Figura 20 os resultados da GSH entre as amostras adquiridas em outubro/2014 e maio/2016, e analisadas em 2016. Os melões (Amarelo e Orange) não apresentaram diferença significativa ($p < 0,05$) pelo teste de T Pareado após o período de armazenamento de 19 meses. A GSH dos melões Cantaloupe, Gália e Verde mantiveram sua estabilidade no patamar de 75%, 76%, 80%, respectivamente. A maior degradação foi de 28%, demonstrando assim uma possível contribuição do processo de liofilização para a preservação da GSH.

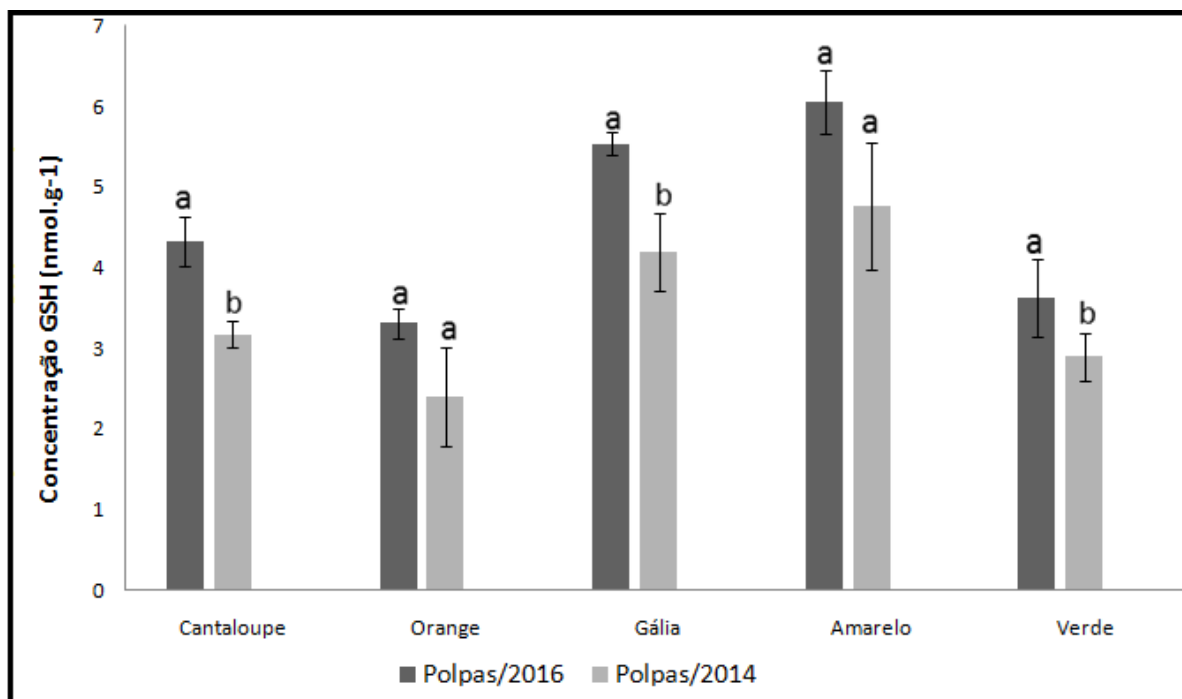


Figura 20. Concentração de GSH nas polpas de melões adquiridos em outubro/2014 e maio/2016. Resultados expressos como média $\pm$ desvio padrão das análises em triplicata. Barras com letras diferentes representam diferença estatística pelo teste T Pareado ($p < 0,05$).

Um coeficiente de correlação linear de Pearson foi determinado para avaliar possível correlação do composto glutatona entre as safras 2014 e 2016 das polpas dos melões estudados. O teste de correlação mostrou alto e positivo coeficiente que indica forte correlação deste fitoquímico entre as duas safras com valor de $r = 0,9915$.

Alguns autores (HUNJAN & EVERED, 1985; LASH et al., 1986) afirmaram que parte da glutatona administrada oralmente é absorvida por células do intestino, mais especificamente no lúmen, estrutura tubular do intestino, participando na desintoxicação do intestino delgado, já outros (JONES et al., 1989; HAGEN et al., 1990; FLAGG et al., 1993) enfatizaram que a GSH dietética pode ser absorvida intacta e resultar em aumento de GSH no plasma, e recomendam o consumo de alimentos que contenham GSH em sua composição. Desta forma, este estudo comprovou a importância em quantificar estes compostos bioativos em alimentos.

Existem atualmente, evidências de que a glutatona é um metabólito multifuncional em plantas e animais, atuando em numerosos processos celulares.

6. CONCLUSÃO

Os resultados evidenciaram um bom desempenho do método de CLAE-FD com derivatização pré-coluna com OPA nas condições dos ensaios efetuados neste estudo, confirmando ser um método analítico sensível para determinação da glutathiona reduzida (GSH), com potencial analítico para quantificação da GSH em frutas e vegetais.

Do ponto de vista da quantidade de glutathiona reduzida (GSH) foram observados teores muito baixos em todos os melões estudados (polpa e casca). A liofilização comprovou ser uma técnica eficaz para preservação da GSH, considerando a estabilidade das amostras depois de 19 meses de armazenamento.

Os melões estudados apresentaram uma gama importante de compostos bioativos com capacidade antioxidante (β -caroteno, vitamina A, carotenoides, compostos fenólicos), com valores mais expressivos para as polpas dos melões Cantaloupe e Honeydew Orange e nas cascas do melão Verde (Pele de Sapo), Honeydew Orange e Cantaloupe. Foram encontrados altos teores de compostos fenólicos em todas as polpas e cascas, com destaque para as cascas dos melões Matisse e Verde (Pele de Sapo). A atividade antioxidante também foi constatada em todos os tipos de melões (polpas e cascas).

Foi observado alto teor de macronutrientes como a fibra alimentar solúvel e a fibra alimentar insolúvel, em especial nas cascas, além do teor considerável de proteína e aminoácidos nos produtos liofilizados.

O baixo teor de glutathiona não justifica seu isolamento, e sim o consumo do fruto *in natura* para o aproveitamento de todos seus compostos bioativos e nutrientes. Em contrapartida a profusão de resíduos (cascas) gerados na cadeia produtiva do melão com alto teor de macronutrientes como a fibra alimentar, além de compostos antioxidantes, justifica sua desidratação por processos menos onerosos em relação a liofilização para seu aproveitamento como ingrediente (farinha) na indústria alimentícia.

7. CONSIDERAÇÕES FINAIS

Este estudo permitiu visualizar um leque de possibilidades para trabalhos futuros, que serão descritos a seguir:

Validar o método CLAE-FD com derivatização pré-coluna utilizando o reagente orto-ftalaldeído (OPA) que foi estabelecido neste estudo, seguindo as normas do Instituto Nacional de Metrologia, Normalização e Qualidade Industrial - Orientações Sobre Validação de Métodos de Ensaio Químicos (INMETRO, 2016), para os parâmetros seletividade, linearidade, limites de detecção e quantificação, precisão, precisão intermediária e a exatidão.

Estabelecer um protocolo de planejamento experimental (RODRIGUES & IEMMA, 2014) para otimização de uma técnica de limpeza das amostras, utilizando ferramentas como SPE visando a eliminação de interferentes que impeçam a quantificação adequada dos analitos.

Avaliar outros frutos e inclusive vegetais, quanto ao conteúdo da GSH e compostos fenólicos, capacidade antioxidante pelos métodos TEAC (*Trolox Equivalente Antioxidant Capacity*), DPPH (*2,2-difenil-1-picrilhidrazil*) e ORAC (*Oxygen Radical Absorbance Capacity*).

Realizar estudos da simulação da digestão gastrointestinal *in vitro* seguindo o método proposto por Sancho et al. (2015) em amostras de frutas e vegetais que apresentarem teores desejáveis de GSH, em amostra de GSH disponível comercialmente e também nos padrões da GSH e de compostos fenólicos.

Analisar os compostos fenólicos e a capacidade antioxidante pelos métodos TEAC (*Trolox Equivalente Antioxidant Capacity*), DPPH (*2,2-difenil-1-picrilhidrazil*) e ORAC (*Oxygen Radical Absorbance Capacity*) após as fases de digestão (*in vitro*) gástrica e intestinal.

8. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

A Qualidade pós-colheita de melão tipo cantaloupe, colhido em dois estádios de maturação. **Horticultura Brasileira**, Brasília, v. 19, n. 3, p. 223-227, 2001.

ABUKHALAF, I. K.; SILVERTROV, N. A.; MENTER, J. M. et al. High performance liquid chromatographic assay for the quantitation of total glutathione in plasma. **Journal Pharmaceutical Biomedical Analysis**, 28:637– 43, 2002.

AKERBOOM, T.; SIES, H. in: **Journal Vina (Ed.)**, Glutathione: Metabolism and Physiological Function, CRC Press, Boca Raton, p. 45, 1990.

ALLISON, L. A.; MAYER, G. S.; SHOUP, R. E. o-Phthalaldehyde derivatives of amines for high-speed liquid chromatography/electrochemistry. **Analitical Chemistry** 56, 1089-1096, 1984.

ALVES, R. E. (Org). Melão: pós-colheita. Fortaleza: Embrapa Agroindústria Tropical; Brasília, DF: Embrapa Comunicação para Transferência de Tecnologia, 43 p. (Frutas do Brasil, 10), 2000.

ALVES et al. Métodos para determinação de atividade antioxidante in vitro em substratos orgânicos. **Química Nova**, v. 33, n. 10, 2202-2210, 2010.

AMBRÓSIO, C. L. B. A., CAMPOS, F. A. C.; FARO, Z. P. Carotenoides como alternativa contra a hipovitaminose. **Revista Nutrição**, Campinas, 19(2): 233-243, mar/abr., 2006.

ANDRADE, D. R. et al. Os radicais livres de oxigênio e as doenças pulmonares. **Revista Jornal Brasileiro de Pneumologia**, São Paulo, v. 31, n. 1, 2005.

ANGELO P, M, JORGE N. Compostos fenólicos em alimentos – Uma breve revisão. **Revista Instituto Adolfo Lutz**, 66(1): 1-9, 2007.

APAK et al. Methods of measurement and evaluation of natural antioxidant capacity/activity (IUPAC Technical Report). **Pure and Applied Chemistry**, v. 85, n. 5, 957-998, 2013.

ARAGÃO, C. A. Qualidade de mudas de melão produzidas em diferentes substratos. **Revista Caatinga**, Mossoró, v. 24, n. 3, p. 209-214, 2011.

ARTÉS, F.; ESCRICHE, A.J.; MARTINEZ, J. A.; MARIN, J.G. Quality factors in four varieties of melons (*Cucumis melo*, L.). **Journal of Food Quality**, Wesport, v.16, n.2, p.91-100, 1993.

ASSOCIATION OF OFFICIAL ANALYTICAL CHEMISTS. Official methods of analysis. 18th ed. Gaithersburg. 2012.

AVI-DOR, Y.; LIPKIN, R. A Spectrophotometric Method for the Determination of Reduced Glutathione. **Journal of Biological Chemistry**, v. 233, n.1, p. 69-72, 1958.

BALASUNDRAM, N.; SUNDARAM, K.; SAMMAN, S. Phenolic compounds in plants and agri-industrial by-products: Antioxidant activity, occurrence, and potential uses. Analytical, Nutritional and Clinical Methods. **Food Chemistry**, 99, p. 191-203, 2005.

BALLATORI, N.; KRANCE, S. M.; NOTENBOOM, S.; SHI, S.; TIEU, K.; HAMMOND, C. L. Glutathione dysregulation and the etiology and progression of human diseases. **Biological Chemistry**, Rochester, V. 390, 3, p. 191-214, 2009.

BARBOSA, K. B. F.; COSTA, N. M. B.; ALFENAS, R. C. G.; DE PAULA, S. O. MINIM, V. P. R.; BRESSAN, J. Estresse oxidativo: conceito, implicações e fatores modulatórios. **Revista de Nutrição**, v. 23, p. 629-643, 2010.

BARKHOLT, V.; JENSEN, A. L. Amino acid analysis: Determination of cysteine plus half cysteine in proteins after hydrochloric acid hydrolysis with a disulfide compound additive. **Analytical Biochemistry** 177: 318-322, 1989.

BARRETO, N. D. S. Qualidade, compostos bioativos e capacidade antioxidante de frutos de híbridos comerciais de meloeiro cultivados no CE e RN. 2011. 184 p. Tese (Doutorado em Agronomia) – Univ. Federal Rural do Semi Árido, Mossoró, 2011.

BECKER, E. M.; NISSEN, L. R.; SKIBESTED, L. H. Antioxidant evaluation protocols: Food quality or health effects. **European Food Research Technology**, Heidelberg, v. 219, p. 561-571, 2004.

BELITZ, H.; GROSH, W. **Food Chemistry**. 2^a ed. Editora Springer. Berlim. 992, 1999.

BENZIE, I.F.F.; STRAIN, J.J. The Ferric Reducing Ability of Plasma (FRAP) as a Measure of "Antioxidant Power": The FRAP Assay. **Analytical Biochemistry**, v.239, p.70-76, 1996.

BOBBIO, P. A.; BOBBIO, F. O. Química do processamento de alimentos. 3^a Edição. São Paulo: Varela, p. 143, 2001.

BOLHASSANI, A.; KHAVARI, A.; BATHAIES, S. Z. Saffron and natural carotenoids: Biochemical activities and anti-tumor effects. **Biochimica et Biophysica Acta (BBA) – Reviews on Cancer**, v. 1845 (1), p. 20-30, 2014.

BOLTER, C.; BRAMMALL, A.; COHEN, R.; LAZAROVITS, G. Glutathione alterations in melon and tomato roots following treatment with chemicals which induce disease resistance to Fusarium wilt. **Physiological and Molecular Plant Pathology**, 42, p. 321-336, 1993.

BOURNE, L. C.; RICE-EVANS, C.A. Detecting and measuring bioavailability of phenolics and flavonoids in humans: pharmacokinetics of urinary excretion of dietary ferulic acid. **Methods in Enzimology**, San Diego, v.299, p.91-106, 1999.

BRAND-WILLIAMS, W.; CUVELIER, M.E.; BERSET, C. Use of a free radical method to evaluate antioxidant activity. **Lebensmittel Wissenschaft und Technologie**, v.28, p.25-30, 1995.

BREWER, M. S. Natural Antioxidants: Sources, Compounds, Mechanisms of Action, and Potential Applications. **Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety**, v. 10, p. 221-247, 2011.

BROINIZI, P. R. B.; ANDRADE-WARTHA, E. R. S.; SILVA, A. M. O.; NOVOA, A. J. V.; TORRES, R. P.; AZEREDO, H. M. C.; ALVES, R. E.; MANCINI-FILHO, J. Avaliação da atividade antioxidante dos compostos fenólicos naturalmente presentes

BUWALDA, F.; KOK, L. J.; STUKEN, I. KUIPER, P. J. C. Cysteine, γ -glutamyl-cysteine and glutathione contents of spinach leaves as affected by darkness and application of excess sulfur. **Physiologia Plantarum**, 74, p. 663-668, 1988.

CAMERA, E.; PICARDO, M. Analytical methods to investigate glutathione and related compounds in biological processes. A review. **Journal Chromatography B**, 781(1-2), 181-206, 2002.

CAN, B.; ERKMEN, G. K.; DALMIZRAK, O.; OGUS, I. H.; OZER, N. Purification and characterization of rat kidney glutathione reductase. **The Protein Journal**, 29, p. 250, 2010.

CAO, G.H.; ALESSIO, H.M.; CUTLER, R.G. Oxygen-radical absorbency capacity assay for antioxidants. **Free Radical Biological Medicine** V.14, p.303-311, 1993.

CAPITAN, P.; MALMEZAT, T.; BREUILLÉ, D.; OBLED, C. Gas chromatographic-mass spectrometric analysis of stable isotopes of cysteine and glutathione in biological samples. **Journal Chromatography. B**, 732,127-135, 1999.

CARVALHO, A. D. F; OLIVEIRA, V. R.; TOSTA, A.L.; MADEIRA, N. B.; RAGASSI, C. F. Avaliação de híbridos experimentais de melão amarelo no distrito Federal em sistema de plantio direto. **Horticultura Brasil**, n. 2, 2622-2629, 2010.

CARVALHO, J.C.T.; GOSMANN, G.; SCHENKEL, E.P. Compostos fenólicos simples e heterosídicos. In. SIMÕES, M. O.; SCHENKEL, E. P.; GOSMANN, G.; MELLO, J. C. P.; MENTZ, L. A.; PETROVICK, P. R. **Farmacognosia: da planta ao medicamento**. 6.ed. Porto Alegre/Florianópolis: Editora da UFRS/Editora da UFSC, p.519-535, 2007.

CARVALHO, P.R.N.; COLLINS, C.A.; RODRIGUEZ-AMAYA, D.B. Comparison of Provitamin A Determination by Normal-phase Gravity-flow Column Chromatography and Reversed Phase High Performance Liquid Chromatography. **Chromatographia**, v. 33, p. 133-37, 1992.

CAZZONELLI, C.I. Carotenoids in nature: insights from plants and beyond, **Functional Plant Biology**, v. 38, 833–847, 2011

CELIK, S.E.; OZYUREK, M.; GUCLU, K.; APAK, S. Solvent effects on the antioxidant capacity of lipophilic and hydrophilic antioxidants measured by CUPRAC, ABTS/persulphate and FRAP methods. **Talanta**, v. 81, p. 1300–1309, 2010.

CERESER C.; GUICHARD, J.; DRAI, J., et al. Quantitation of reduced and total glutathione at the femtomole level by high-performance liquid chromatography with fluorescence detection: application to red blood cells and cultured fibroblasts. **Journal Chromatography B**, 752:123– 32, 2001.

CERQUEIRA, F. M.; MEDEIROS, M. H. G.; AUGUSTO, A. Antioxidantes dietéticos: controvérsias e perspectivas. **Química Nova**, São Paulo, v.30, n.2, p.441-449, 2007.

CHAKRAVARTHI, S.; JESSOP, C. E.; BULLEID, N. J. The role of glutathione in disulphide bond formation and endoplasmic-reticulum-generated oxidative stress. European Molecular Biology Organization **EMBO**, vol.7, n.3, p.271-275, 2006.

CHEN, C. L.; HUANG. C.H.; SUNO, J.M. Antioxidants in aerial parts of *Hypericum sampsonii*, *Hypericum japonicum* and *Hypericum perforatum*. **International Journal of Food Science & Technology**, 44(11), p. 2249-2255, 2009.

CHIANG, L.C.; CHENG, H.Y.; LIU, M.C.; CHIANG, W.; LIN, C.C. *In vitro* evaluation of antileukemic activity of 17 commonly used fruits and vegetables in Taiwan. **LWT – Food Science and Technology**, v. 37, p. 539–544, 2004.

CHU, C.; LIN, M.; YU, X.; YE, J. Study on extraction efficiency of natural antioxidant in coffee by capillary electrophoresis with amperometric detection. **European Food Research and Technology**, 226:1373–1378, 2008.

CHUN, O.K.; KIM, D.O.; LEE, C.Y. Superoxide radical scavenging activity of the major polyphenols in fresh plums. **Journal Agriculture Food Chemical**, v.51, p.8067-8072, 2003.

CHUST, R. B. **Introdução Cromatografia de Líquidos (HPLC)**. BOLETIM SPQ, 39, 1990.

CIRCU, M. L.; AW, T. Y. Glutathione and apoptosis. **Free Radicals Research**, 42, 689, 2008.

COHN, V. H.; LYLE, J. A fluorometric assay for glutathione. **Analitical Biochemistry** 14, 434-440, 1966.

COLLINS, A. R. Assays for oxidative stress and antioxidant status: applications to research into the biological effectiveness of polyphenols. **American Journal of Clinical Nutrition**, v. 81, n. 1, p. 261S-267S, 2005.

COMPAGNONE, D., Massoud, R., Di Ilio, C., Federici, G. Potentiometric determination of glutathione and glutathione transferase activity. **Analitical Letters**, 24, 993-1004, 1991.

COOPER, C. E.; VOLLAARD, N. B. J.; CHOUEIRI, T.; WILSON, M. T. Exercise, free radicals and oxidative stress. **Biochemistry Society Transactions**, 30: 280-5, 2002.

CONDURSO, C.; VERZERA, A.; DIMA, G.; G. TRIPODIA, G.; CRINÓ, P.; PARATORE, A.; ROMANO, D. Effects of different rootstocks on aroma volatile compounds and carotenoid content of melon fruits. **Scientia Horticulturae**, v. 148, 9-16, 2012.

CORRÊA, C. C. Desenvolvimento de biossensores para determinação da razão glutathiona reduzida/oxidada utilizando plataformas à base de nanotubos de carbono dispersos em quitosana. 2013, 90 p. Tese (Instituto de Química) – Universidade Estadual de Campinas, 2013.

COSTA, N.D.; SIVA, H.R. da. Cultivares. In: SILVA, H.R. da.; COSTA, N.D. Melão: produção, aspectos técnicos. Brasília: **EMPRAPA**, p. 29-34. (Frutas do Brasil, 33), 2003.

CRISÓSTOMO, J. R. Melão: agricultura familiar na Chapada do Apodi, Ceará. 2004.

CRISÓSTOMO, J. R.; ARAGÃO, F. A. S. Melhoramento Genético do Melão. In: **I Simpósio Nordestino de Genética e Melhoramento de plantas**, Fortaleza. Embrapa Agroindústria Tropical, 1, p. 210, 2009.

DANTAS, D. J.; MENDONÇA, V.; GUIMARÃES, I. P.; DANTAS, D. J. Avaliação da produção e qualidade de híbridos de melão Cantaloupe. **Revista Verde**, v. 6, n. 4, p. 132-136, 2011.

DÁVALOS, A.; GÓMEZ-CORDOVÉS, C.; BARTOLOMÉ, B. Extending applicability of the Oxygen Radical Absorbance Capacity (ORAC- Fluorescein) assay. **Journal of Agricultural Food Chemistry**, 52, 48-54, 2004.

DAVID, J.M.; BARREIROS, A. L. B. S. Estresse oxidativo: relação entre geração de espécies reativas e defesa do organismo. **Química Nova**, vol. 29, nº 1, 113-123, 2006.

DEL RÉ, P. V.; JORGE, N. Especiarias como antioxidantes naturais: aplicações em alimentos e implicação na saúde. **Revista Brasileira de Plantas Medicinai**s, v. 14, p. 389-399, 2012.

DEMIRKOL, O.; ADAMS, C.; ERCAL, D. Biologically important thiols in various vegetables and fruits. **Journal Agriculture Food Chemistry**, 52, 8151-8154, 2004.

DEUSTSCH, J. C.; SANTHOSH-KUMAR, C. R.; KOLHOUSE, J. F. Glutathione oxidation in real time by thermospray liquid chromatography-mass spectrometry **Journal Chromatography A** 862, 1999.

DF. Disponível em: <www.ibge.gov.br>. Acesso em: 22 agosto 2016.

DICKINSON, D. A.; FORMAN, H. J. Cellular glutathione and thiols metabolism. **Elsevier-Biochemical Pharmacology**, 64, p. 1019-1026, 2002.

DREOSTI, J. E. Antioxidant polyphenols in tea, cocoa, and wine. **Nutrition**. v.16, p. 692 - 694, 2000.

DUDONNE, S.; VITRAC, X.; COUTIERE, P.; WOILLETZ, M.; MERILLON, J. M. Comparative study of antioxidant properties and total phenolic content 30 plant extracts of industrial interest using DPPH, ABTS, FRAP, SOD and ORAC assays. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v.57, p.1768-1774, 2009.

ELLMAN, G. L. Tissue sulfydryl groups. **Arch. Biochem. Biophys.** 82, p. 70-77, 1959.

FANG, Y.; YANG, G. S.; WU, G. Regulation of physiological systems by nutrients free radicals, antioxidants and nutrition. **Nutrition**, 18(10), 872-879, 2002.

FAO, 2012. *Statistics at FAO*. (Online) Disponível via internet WWW.URL: <http://www.fao.org/statistics/en>. Acesso em 20 Julho 2016.

FLAGG et al. Dietary glutathione intake and the risk of oral and pharyngeal cancer. **American Journal of Epidemiology**, 139(59), 453-465, 1994.

FERREIRA, A. L. A.; MATSUBARA, L. S. Radicais livres: conceitos, doenças relacionadas, sistema de defesa e estresse oxidativo. **Revista Associação Médica Brasileira**, 43, p. 61-68, 1997.

FILGUEIRAS, H. A. C.; MENEZES, J. B.; ALVES, R. E.; COSTA, F. V.; PEREIRA, L. S. E.; GOMES JÚNIOR, J. Colheita e manuseio pós-colheita. In: ALVES, R.E. (Org). **Melão pós-colheita**. Brasília: *EMBRAPA-SPI*, p. 23-41. (Frutas do Brasil, 10), 2000.

FLOHE, L. Oxygen Free Radicals and Tissue Damage. **Ciba Found. Symp.** 65, 95-122, 1978.

FOOD PROPERTIES. *Discover nutritional properties of food and learn about nutrition facts*. (Online) Disponível via internet WWW.URL: <http://food-properties.com/raw-cantaloupe-melons>. Acesso em 11 de Agosto 2016.

FORMAN, H. J.; RINA, A. ZHANG, H. Glutathione: Overview of its protective roles, measurement, and biosynthesis. **Molecular Aspects of Medicine**, 30, p.1-12, 2009.

FORMAN, H. J.; DAVIES, K. J. A.; URSINI, F. How do nutritional antioxidants really work: nucleoplilic tone and para-hormesis versus free radical scavenging *in vivo*. **Free Radical Biology and Medicine**, v. 66, 24-35, 2014.

FRANCO, G. **Tabela de composição química dos alimentos**. São Paulo: Atheneu, 1992. 230p.

FRANKEL, E. N.; FINLEY, J. W. How to standardize the multiplicity of methods to evaluate natural antioxidants. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, 56 (13), 4901-4908, 2008.

FREIRE, A. P.; SANTOS, C. M. C. Glutathione e toxicidade de etanol. **BOLETIM SPQ**, 42, 1990.

FRIDA FOOD DATA 2017. Disponível via internet: <http://frida.fooddata.dk>. Acesso em 16 junho 2017.

FRUPEX. **Melão para a exportação: procedimentos de colheita e pós-colheita**. Brasília, DF: Embrapa-SPI, p. 37, 1994.

FU et al. Antioxidant capacities and total phenolic contents of 62 fruits. **Food Chemistry**, v. 129, n. 2, p. 345-350, 2011.

GAWLIK, M.; KRZYZANOWKA, W.; GAWLIK, M. B.; FILIP, M. Optimization of determination of reduced and oxidized glutathione in rat striatum by HPLC method with fluorescence detection and pre-column derivatization. **Acta Chromatographica** 26 (2), 335–345, 2014.

GERTH, C.; MORRISEY, B. M.; CROSS, C. E.; WERNER, J. S. Lutein, zeaxanthin, macular pigment, and visual function in adult cystic fibrosis patients. **American Journal of Clinical Nutrition**, v.79, p.1045-1052, 2004.

GGN, 2014. **Exportação de frutas brasileiras segue em alta**. Disponível em: <<http://jornalgggn.com.br/noticia/exportacao-de-frutas-brasileiras-segue-em-alta>>. Acesso em: 05 jun. 2017.

GHISELLI, A.; SERAFINI, M.; NATELLA, F.; SCACCINI, C. **Free Radical Biology and Medicine**, v. 29, p. 1106, 2000.

GOMES JÚNIOR, J.; MENEZES, J. B.; NUNES, G. H. S.; COSTA, F. B.; SOUZA, P.GONÇALVES, A. E.S.; LELLIS-SANTOS, C.; CURI, R.; LAJOLO, F. M.;GENOVESE, M. I. Frozen pulp extracts of camu-camu (*Myrciaria dubia* McVaugh) attenuate the hyperlipidemia and lipid peroxidation of Type1 diabeticroats. **Food Research International**, v. 64, p. 1-8, 2014.

GONDA, I.; BAR, E.; PORTNOY, V.; LEV, S.; BURGER, J.; SCHAFFER, A.; TADMOR, Y.; GEPSTEIN, S.; GIOVANNONI, J.; KATZIR, N.; LEWINSOHN, E. Branched-chain and aromatic amino acid catabolism into aroma volatiles in Cucumis melo L. fruit. **Journal of Experimental Botany**, 61: 1111-1123, 2010.

GONDIM, J. A.; MOURA, M. F. V.; DANTAS, A. S.; MEDEIROS, R. L.; SANTOS, K. M. Composição centesimal e de minerais em cascas de frutas. **Ciência Tecnologia Alimentos**, Campinas, 25 (4): 825-827, out.-dez. 2005.

GONÇALVES, A. E.S.; LELLIS-SANTOS, C.; CURI, R.; LAJOLO, F. M.; GENOVESE, M. I. Frozen pulp extracts of camu-camu (*Myrciaria dubia* McVaugh) attenuate the hyperlipidemia and lipid peroxidation of Type1 diabeticroats. **Food Research International**, v. 64, p. 1-8, 2014.

GORELIK, S.; LIGUMSKY, M.; KOHEN, R.; KANNER, J. A novel function of red wine polyphenols in humans: prevention of absorption of cytotoxic lipid peroxidation products. **The FASEB Journal Research Communication**, v. 22, p. 41-46, 2008.

GRANATO, D.; SANTOS, J. S.; MACIEL, L.G.; NUNES, D. S. Chemical perspective and criticism on selected analytical methods used to estimate the total content of phenolic compounds in food matrices. **Trends in Analytical Chemistry**, 80, 266–279, 2016.

GRIFFITH, O. W. Biologic and pharmacologic regulation of mammalian glutathione synthesis. **Free Radical Biology Medicine**, 27, 922; 1999.

GROSS, J. **Pigments in vegetables: chlorophylls and carotenoids**. Boca Raton: Chapman & Hall, 1991.

GÜNTHERBERG, H.; ROST, J. The true oxidizes glutathione content of red blood cells obtained by new enzymic and paper chromatographic methods. **Analytical Biochemistry**, 15: 205-21, 1966.

GUTIÉRREZ, J. R. V. Daño oxidativo, radicales libres y antioxidantes. **Revista Cubana Med Militar**, v. 31, n. 2, p. 126-33, 2002.

GUTTERIDGE, J. M. C.; Free radical-lipidic interations and their pathological consequences. **Free Radicals Res.**, Comm., 19, p. 141, 1993.

HAGEN, S. R.; FROST, B.; AUGUSTIN, J. Precolumn phenylisothiocyanate derivatization and liquid chromatography of aminoacids in food. **Journal of the**

Association of Official Analytical Chemists, v. 72, n.6, n. 912-916, Nov-Dec, 1989.

HAGEN, T. M.; WIERZBICKA, G. T.; SILLAU, A. H.; BOWMAN, B. B.; JONES, D.P. Bioavailability of dietary glutathione. Effect on plasma concentration. **American Journal of Physiology**, 259, 524-529, 1990.

HALLIWELL, B. Free radicals and antioxidants: updating a personal view. **Nutrition Reviews**, v. 70 (5), 257-265, 2012.

HALLIWELL, B.; GUTTERIDGE, J. M. C.; Free Radicals in Biology and Medicine, 4th ed.; Oxford University Press, Oxford, 2007.

HANDELMAN, G.J. The evolving role of carotenoids in human biochemistry. **Journal of Nutrition**, v.17, p.818-822, 2001.

HERRERA, E.; JIMÉNEZ, R.; ARUOMA, I. O.; HERCBERG, S.; SÁNCHEZ-GARCÍA, I.; FRAGA, C. Aspects of antioxidants foods and supplements in health and disease. **Nutrition Reviews**, 67(1), 140-144, 2009.

HIRAKU, Y.; MURATA, M.; KAWANISHI, S. Determination of intracellular glutathione and thiols by high performance liquid chromatography with a gold electrode at the femtomole level: comparison with a spectroscopic assay. **Biochemistry Biophysics Acta**, 1570, 47-52, 2002.

HISSIN, P. J.; HILF, R. A fluorometric method for determination of oxidized and reduced glutathione in tissues. **Analytical Biochemistry**, 74, 214-226, 1976.

HÖEHR, N. F.; JUNIOR, L. R.; KUBOTA, L. T. Sistema antioxidante envolvendo o ciclo metabólico da glutatona associado a métodos eletroanalíticos na avaliação do stresse oxidativo. **Química Nova**, 24 (1), p.111-119, 2001.

HORAX, R.; HETTIARACHCHY, N., KANNAN, A.; CHEN, P. Proximate composition and amino acid and mineral contents of *Mormordica charantia* L. pericarp and seeds at different maturity stages. **Food Chemistry**, 122: 1111-1115, 2010.

HORWITZ, W. **Official Methods of Analysis of the Association of Official Analytical Chemists**. 18th Ed. 2005. Current Through Revision 3, 2010 Gaithersburg, Maryland, AOAC, 2010.

HORWITZ, W.; LATIMER JR., GEORGE W. (Ed.). **Official Methods of Analysis of the Association of Official Analytical Chemists**. 19th ed. Gaithersburg, Maryland: AOAC, 2012.

HUANG, D.; OU, B.; PRIOR, R. L. The Chemistry behind Antioxidant Capacity Assays. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, Washington, v.53, n.6, p.1841-1856, 2005.

HUBBARD, N. L.; HUBER, S. C.; PHARR, D. M. Sucrose phosphate synthase and acid invertase as determinants of sucrose concentration in developing muskmelon (*Cucumis melo* L.) fruits. **Plant Physiology**, Rockville, v. 91, p. 1527-1534, 1989.

HUBER, P. C.; ALMEIDA, W. P.; FÁTIMA, A. Revisão glutatona e enzimas relacionadas: papel biológico e importância em processos patológicos. **Química Nova**, Vol. 31, n.5, 1170-1179, 2008.

HUNJAN, M. K.; EVERED, D. F. Absorption of glutathione from the gastro-intestinal tract. **Biochimica Biophysica Acta**, 815, 184-188, 1985.

ILMAZ, O.; KESER, S.; TUZCU, M.; GUVENC, M.; ÇETINTAS, B.; IRTEGUN, S.; TASTAN, H.; SAHIM, K. A practical HPLC method reduced (GSH) and oxidized (GSSG) glutathione concentrations in animal tissues. **J. of Animal and Veterinary Advances**, 8 (2), p. 343-347, 2009.

IMAI, K.; UZU, S.; TOYO'OKA, T. Fluorogenic reagents, having benzofurazan structure, in liquid chromatography. **Journal Pharmaceutical Biomedical Analysis**, 7:1395-403, 1989.

INMETRO. Coordenação Geral de Acreditação. DOQ-CQRE-008: **Orientação sobre validação de métodos analíticos**. Rio de Janeiro, ago. 2016. 31p. Revisão n. 05.

ISABELLE et al. Antioxidant activity and profiles of common vegetables in Singapore. **Food Chemistry**, 120, 993-1003, 2010

INSEL, P.; TURNER, R. E.; ROSS, D. **Nutrition**. 2ª ed. Chicago: American dietetic association, p. 740, 2004.

INSTITUTO BRASILEIRO DE FRUTAS – IBRAF. Estatísticas. Disponível em <<http://www.ibraf.org.br/x-es/f-esta.html>>. Acesso em 11 agostos 2016.

INSTITUTO BRASILEIRO DE GEOGRAFIA E ESTATÍSTICA – IBGE. Banco de Dados Agregados - Sistema IBGE de Recuperação Automática – SIDRA. Área colhida, quantidade produzida e valor da produção de melão: 2012 a 2015. Brasília-

ISLAM, S.; JALALUDDIN, M.; HETTIARACHCHY, N. S. Bio-active compounds of bitter melon genotypes (*Momordica charantia* L.) in relation to their physiological functions. **Functional Foods in Health and Disease**, 1(2), p. 61-74, 2011.

ISMAIL, H.I.; CHAN, K.W.; MARIOD, A. A.; ISMAIL, M. Phenolic content and antioxidant activity of cantaloupe (*Cucumis melo*) methanolic extracts. **Food Chemistry**, n.119, p.643–647, 2010.

IVANV, A. R.; NAZIMOV, I. V.; BARATOVA, L.; LOBAZOV, A. P.; POPOVICH, G. B. Determination of biologically active low-molecular-mass thiols in human blood. III. Highly sensitive narrow-bore isocratic reversed phase high performance liquid chromatography with fluorescence detection. **Journal Chromatography A**, 913, 315-318, 2001.

IWASAKI, Y.; SAITO, Y.; NAKANO, Y.; MOCHIZUKI, K.; SAKATA, O.; ITO, R.; SAITO K.; NAKAZAWA, H. Chromatographic and mass spectrometric analysis of glutathione in biological samples; a review. **Journal Chromatography B**, 877(28), 3309-3317, 2009.

JIN, W.; LI, W.; XU, Q.; Quantitative determination of glutathione in single human erythrocytes by capillary zone electrophoresis with electrochemical detection. **Electrophoresis**, 21, 774-779, 2000.

JOHANSEN, J. S.; HARRIS, A. K.; RYCHLY, D. J.; ERGUL, A. Oxidative stress and the use of antioxidants in diabetes: liking basic science to clinical practice. **Cardiovasc Diabetol**, 4 (5), 1-11, 2005.

JONES, D. P.; HAGEN, T. M.; WEBER, R.; WIERZBICKA, G. T.; BONKOVSKY, H. L. Oral Administration of Glutathione (GSH) Increases Plasma GSH Concentrations in Humans. **FASEB Journal** 3, A1250, 1989.

JONES et al. Glutathione in foods listed in the national cancer institute's health habits and history food frequency questionnaire. **Nutrition and Cancer**, 17, 57-75, 1992.

JONES, D. P. Glutathione distribution in natural products: Absorption and tissue distribution. In: Abelson, J. N.; Simon, M. J. (Eds.). **Methods in Enzymology**, Academic Press, New York, 252 p., 1995.

KADIAN, S. S.; GARG, M. Pharmacological effects of carotenoids: a review. **International Journal of Pharma Sciences and Research**, 3, 42-48, 2012.

KALIL, A. C. **Manual básico de nutrição**. Vol. 23. Instituto de Sande. 1975.

KATRUSIAK, A.E.; PATERSON, P.G.; HUSE, K.; SHOKER, A.; LYON, A. W. Pre-column derivatization high-performance liquid chromatographic method for determination of cysteine, cysteinylglycine, homocysteine and glutathione in plasma and cell extracts. **Journal Chromatography B**; 758:207– 12, 2001.

KEVERS, C., FALKOWSKI, M., TABART, J., DEFRAIGNE, J-O., DOMMES, J., PINCEMAIL, J. Evolution of antioxidant capacity during storage of selected fruits and vegetables. **Journal Agriculture Food Chemistry**, 55:8596-8603, 2007.

KIM, D.O.; JEONG, S.W.; LEE, C.Y. Antioxidant capacity of phenolic phytochemicals from various cultivars of plums. **Food Chemistry**, v.81, p.321-326, 2003.

KIOKIAS, S.; GORDON, M. H. Antioxidant Properties of Carotenoids in vitro and in vivo. **Food Reviews International**, v.20, n.2, p.99–121, 2004.

KOLAYLI, S.; KARA, M.; ULUSOY, E.; TEZCAN, F.; ERIM, F. B.; ALIYAZICIOGLU, R. Comparative Study of Chemical and Biochemical Properties of Different Melon Cultivars: Standard, Hybrid, and Grafted Melons. **Agriculture Food Chemistry**, 58, p.9764–9769, 2010.

KOURY, J. C.; DONANGELO, C. M. Zinco, estresse oxidativo e atividade física. **Revista de Nutrição**, Campinas, v. 16, n. 4, 2003.

KRINSKY, N.I.; JOHNSON, E.J. Carotenoid actions and their relation to health and disease. **Molecular Aspects of Medicine**, v.26, p.459-516, 2005.

KUSMIEREK, K.; BALD, E. Reduced and total glutathione and cysteine profiles of citrus fruit juices using liquid chromatography. **Food Chemistry**, 106, p. 340-344, 2008.

LACOURSE, W. R., OWENS, G. S. Pulsed electrochemical detection of thiocompounds following microchromatographic separations. **Analytica Chimica Acta**, 307, 301-319, 1995.

LACOURSE, W. R.; DASEMBROCK, C. O. Column liquid chromatography. K. mace ked., **Elsevier**, Amsterdam, 470, 1998.

LASH, L. H.; HAGEN, T. M. JONES, D. P. Exogenous glutathione protects intestinal epithelial cells from oxidative injury. **Proceedings of National Academy of Science USA** 83, 4641-4645, 1986.

LAUR, L. M.; TIAN, L. Provitamin A and vitamin C contents in selected California-grown cantaloupe and honeydew melons and imported melons. **Journal of Food Composition and Analysis**, 24, 194-201, 2011.

LEONG, L.P.; SHUI, G. An investigation of antioxidant capacity of fruits in Singapore markets. **Food Chemistry**, Barking, v. 76; p. 69-75, 2002.

LESTER, G. Melon (*Cucumis melo* L.) fruit nutrition quality and health functionality. **HortTechnology**, 7, p.222-227, 1997.

LI, Y; WEI, G.; CHEN, J. Glutathione: a review on biotechnological production. **Applied Microbiology and Biotechnology**, v. 66, n. 3, p. 233-242, 2004.

LIU, R. H. Health benefits of fruits: implications for disease prevention and health promotion fruits. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE FRUTICULTURA, 19, 2006,

Cabo Frio. Palestras e resumos... Cabo frio-RJ: SBF/UENF/UFRuralRJ. p. 36-44. 2006.

LÓPEZ-ALARCÓN, C.; DENICOLA, A. Evaluating the antioxidant capacity of natural products: A review on chemical and cellular-based assays. **Analytica Chimica Acta**, 763, 1-10, 2013.

MAGALHÃES, L. M.; SEGUNDO, M. A.; REIS, S.; LIMA, J. L. F. C. Methodological aspects about in vitro evaluation of antioxidant properties. **Analytica Chimica Acta**, 613, 1-19, 2008.

MANDA, K. R.; ADAMS, C.; ERCAL, N. Biologically importante thiols in aqueous extracts of spices and evaluation of their in vitro antioxidante properties. **Food Chemistry**, 118(3), 589-593, 2010.

MALLEK-AYADI, S.; BAHLOUL, N.; KECHAOU, N. Characterization, phenolic compounds and functional properties of *Cucumis melo* L. peels. **Food Chemistry**, v. 221, p. 1691-1697, 2017.

MARINOVA, D.; RIBAROVA, F. HPLC determination of carotenoids in Bulgarianberries. **Journal of Food Composition and Analysis**, n. 20, p. 370-374, 2007.

MARZAL, P. C. Desenvolvimento de um eletrodo amperométrico para a determinação de glutatona em eritrócitos, 2005. 117 p. Tese (Instituto de Química) - Universidade Estadual de Campinas, 2005.

MASSAQUOI, R. C. J. "**Groundnut, Egusi, Palm Oil, and Other Soups**", in Foods of Sierra Leone and Other West African Countries: A Cookbook, AuthorHouse, p.36, 2011.

MATAMOROS, M. A.; CLEMENTE, M. R.; SATO, S.; ASAMIZU, E.; TABATA, S.; RAMOS, J.; MORAN, J. F.; STILLER, J.; GRESSHOFF, P. M.; BECANA, M. Molecular analysis of the pathway for the synthesis of thiol tripeptides in the model legume *Lotus japonicus*. **Molecular Plant-Microbe Interactions**, 16(11), 1039-1046, 2003.

MAUGERI, D.; SANTANGELO, A.; BONANNO, M. R.; TESTAI, M.; ABBATE, S.; LO, G. F.; MAMAZZA, C.; PUGLISI, N.; PANEBIANCO, P. Oxidative stress and aging: studies on East Sicilian, ultraoctagenarian population living in institutes or at home. **Archives Gerontology Geriatrics Supplement**, 9: 271-7, 2004.

MEISTER, A. LARSSON, A. Glutathione synthetase deficiency and other disorders of the γ -glutamyl cycle. In: Scriver CR, Beaudet AL, Sly, WS, Valle D, editors. The metabolic basis of inherited disease. 6th Edition, New York, McGraw-Hill, p.855-868, 1989.

MEISTER, A. On the discovery of glutathione. **Trends Biochemistry Science**, 13, p. 185 – 189, 1988.

MELO, D. M.; CHARLO, H. C.O; GALATTI, F. S.; FRANCO, A. J.; CASTOLDI. R.; BRAZ, L. T. Produtividade De Híbridos De Melão Rendilhado Em Diferentes Substratos Alternativos. **Horticultura Brasileira**, v. 27, n. 2 (Suplemento - CD Rom), agosto 2009.

MELO, E. A.; MACIEL, M. I. S.; LIMA, V. L. A. G.; NASCIMENTO, R. J. Capacidade antioxidante de frutas. **Revista Brasileira de Ciências Farmacêuticas Brazilian Journal of Pharmaceutical Sciences**, vol. 44, n. 2, abr./jun., 2008.

MENDONÇA, F.V.S.; MENEZES, J.B.; GUIMARÃES, A.A.; SOUZA, P.A.; SIMÕES, A.N.; SOUZA, G.L.F.M. Armazenamento do melão amarelo, híbrido RX20094, sob temperatura ambiente. **Horticultura Brasileira, Brasília**, v. 22, n.1 p. 76-79, jan-mar 2004.

MENDOZA, J.; GARRIDO, T.; RIVEROS, R.; PARADA. J. Rapid capillary electrophoresis analysis of glutathione and glutathione disulfide in roots and shoots of plants exposed to copper. **Phytochemical Analysis**, 20, p. 114-119, 2009.

MENEZES, J. B.; FILGUEIRAS, H. A. C.; ALVES, R. E., MAIA, C. E.; ANDRADE, G. G.; ALMEIDA, J. H. S.; VIANA, F. M. P. Característica do melão para exportação. In: ALVES, R. E. (Org.) **Melão: pós-colheita**. Fortaleza: Embrapa Agroindústria Tropical; Brasília: Embrapa Comunicação para Transferência de Tecnologia, p. 13 22, 2000.

MENEZES, J. B.; GOMES JUNIOR, J.; ARAÚJO NETO, S.E.; SIMÕES, A.N. Armazenamento de dois genótipos de melão amarelo sob condições ambiente. **Horticultura Brasileira**, Brasília, v. 19, n. 1 p. 42-49, março, 2001.

MCNULTY, H. P; BYUN, J.; LOCKWOOD S. F.; JACOB, R. F.; MASON, R. P. Differential effects of carotenoids on lipid peroxidation due to membrane interactions: X-ray diffraction analysis. **Biochimica et Biophysica Acta**, 1768, 167–174, 2007

MIKAMI, I.; YAMAGUCHI, M.; SHINMOTO, H.; TSUSHIDA, T. Development and Validation of a Microplate-based β -carotene Bleaching Assay and Comparison of Antioxidant Activity (AOA) in Several Crops Measured by β -carotene Bleaching, DPPH and ORAC Assays. **Food Science Technology Research**, 15 (2), p. 171 – 178, 2009.

MILLER, N. J.; RICE-EVANS, C. A.; DAVIES, M. J. GOPINATHAN, C.; MILNER, A. A. Novel method for measuring antioxidant capacity and its application to monitoring antioxidant status in premature neonates. **Clinical Science**, v.84, p. 407-412, 1993.

MILLIND, P. & KULWANT, S. (2011). Musk melon is eat-must melon. **International Research Journal of Pharmacy**, 2(8), 52–57, 2011.

MILLS, B. J.; STINTON, C. T.; LIU, M. C.; LANG, C. A. Glutathione and cysteine profiles of vegetables using high-performance liquid chromatography with dual electrochemical detection. **Journal of Food Composition and Analysis**, 10, 90-101, 1997.

MINISTÉRIO da AGRICULTURA, PECUÁRIA e ABASTECIMENTO – MAPA. AGROSTAT . Disponível em < <http://agrostat.agricultura.gov.br> > Acesso em 09 set. 2016.

MLADENOV, M. Redox kinetic measurements of glutathione at the mercury electrode by square-wave voltammetry. The role cooper, cadmium and zinc ions. **Bioelectrochemistry**, 65, p. 69-76, 2004.

MOLYNEUX, P. The use of the stable free radical diphenylpicrylhydrazyl (DPPH) for estimating antioxidant activity. **Songklanakarin Journal Science Technology**, v. 26, n. 2, p. 211-219, 2004.

MONOSTORI, P.; WITTMANN, G.; KARG, E.; TÚRI, S. Determination of glutathione and glutathione disulfide in biological samples: an in-depth review. **Journal Chromatography B**, 877, p.3331- 3346, 2009.

MOO-HUCHIN, V. M.; MOO-HUCHIN, M. I.; ESTRADA-LEÓN, R. J.; CUEVAS-GLORY, L; ESTRADA-MOTA, I. A.; ORTIZ-VÁZQUEZ, E.; BETANCUR-ANCONA, D.; SAURI-DUCH, E. Antioxidant compounds, antioxidant activity and phenolic content in peel from three tropical fruits from Yucatan, Mexico. **Food Chemistry**, v. 166, p. 17-22, 2015.

MOORE, R. R., BANKS, C. E., COMPTON, R. G. Electrocatalytic detection of thiols using an edge plane pyrolytic graphite electrode. **Analyst**, 129, 755-758, 2004.

MORAIS, D. M. Antioxidant activity, phenolics and UPLC-ESI(-)-MS of extracts from different tropical fruits parts and processed peels. **Food Research International**, 77, 392–399, 2015

NATIONAL RESEARCH COUNCIL. “Egusi”. **Lost Crops of Africa: Volume II: Vegetables**. National Academies Press (155-171), p. 158, 2006.

NAVAZIO, J. P. Utilization of high-carotene cucumber germplasm for genetic improvement of nutritional quality. Ph.D. Dissertation, University of Wisconsin-Madison, Madison-WI, EUA, p. 116, 1994.

NELSON, D. L. & COX, M. M. *Lehninger Principles of Biochemistry*, 3rd ed. New York: Worth Publishers, 2000.

NETO, A. S. S. R. Glutathione, envolvimento em defesa antioxidante, regulação de morte celular programada e destoxificação de drogas, 2010. 77 p. Dissertação (Faculdade Ciências da Saúde) - Universidade Fernando Pessoa, Porto, 2010.

NEUSCHWANDER-TETRI, B. A.; ROLL, J. Glutathione measurement by high-performance liquid chromatography separation and fluorimetric detection of the

glutathione-orthophthalaldehyde adduct. **Analytical Biochemistry**, 179,236-241, 1989.

NICKEL, J.; LOURENÇO, A.; PEDERZOLI, B.; UECKER, J, N.; BOTELHO, F.; HELBIG, E. **Teor de vitamina C em frutas de cultivo convencional e orgânico**. Anais do 5º Simposio de segurança alimentar alimentação e saúde – Bento Gonçalves – RS. Disponível em: <http://www.ufrgs.br/sbctars-eventos/gerenciador/painel/trabalhosversaofinal/SAL479.pdf>. Acesso em: 12/07/2017.

NISAR, N.; LI, L.; LU, S.; KHIN, N. C.; POGSON, B. J. Carotenoid metabolism in plants. **Molecular Plant**, 8, 68-82, 2015.

NISHINO, H.; MURAKOSHI, M.; TOKUDA, H.; SATOMI, Y. Cancer prevention by carotenoids. **Archives of Biochemistry and Biophysics**, v.483, p.165-168, 2009.

NORRIS, R.L.; EAGLESHAM, G.K.; SHAW, G.R. et al. A sensitive and specific assay for glutathione with potential application to glutathione disulphide, using high-performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry. **Journal Chromatography B**, 2001; 762:17– 23.

OE, T.; OHYAGI, T.; NAGANUMA, A. Determination of g-glutamylglutathione and other low-molecular-mass biological thiol compounds by isocratic high-performance liquid chromatography with fluorometric detection. **Journal Chromatography B**; 708:285– 9, 1998.

OLIVEIRA, A. C.; VALENTIM, I. B.; GOULART, M. O. F. Fontes vegetais naturais de antioxidantes. **Química Nova**, v.32, n. 3, p. 689-702, 2009.

OLSON, J.A. Carotenoids and human health. **Archivos Latinoamericanos de Nutrición**, v.49, n.3, p.7-11, 1999.

OWES, C. W. I.; BELCHER, R. V. A colorimetric micro-method for the determination of glutathione. **Biochemical Journal**, 94, 705-711, 1965.

PAILHADE, D. R. Sur un corps d'origine organique hydrogeant le soufre a froid. **Comptes Rendus Académie Sciences**; 106:1683–4, 1888.

PARÉ, J. R. J.; BÉLANGER, J. M. R. Instrumental methods in food analysis, Amsterdam, **Elsevier**, 1997.

PARK, H. W.; YOU, B. R. Gallic acid induced lung cancer cell death is related to glutathione, depletion as well as reactive oxygen species increase. **Toxicology in Vitro**, 24(5), p.1356-1362, 2010,

PARONI, R.; VECCHI, E.; CIGHETTI, G; ARCELLONI, C.; FERMO, I.; GROSSI, A.; BONINI, P. HPLC with o-phthalaldehyde precolumn derivatization to measure total, oxidized and protein-bound glutathione in blood, plasma and tissue. **Clinical Chemistry** 41/3, p.448-454, 1995.

PARVEEN, S.; ALI, M. A.; ASGHAR, M.; KHAN, A. R.; SALAM, A. Physico-chemical changes in muskmelon (*Cucumis melo* L.) as affected by harvest maturity stage. **Journal of Agricultural Research**, 50 (2), p. 249-260, 2012

PASSMORE, R.; NICOL, B.M.; RAO, M.N. **Manual Sobre Necessidades Nutricionales Del Hombre**. Ginebra: O.M.S., 1975. (Série de Monografia, 61).

PEDROSA, J.F. **Cultura do melão**. Mossoró: ESAM, 1997. 51 p. (Apostila)

PELLEGRINI, N.; SERAFINI, M.; COLOMBI, B.; DEL RIO, D.; SALVATORE, S.; BIANCHI, M.; BRIGHENTI, F. Total Antioxidant Capacity of Plant Foods, Beverages and Oils Consumed in Italy Assessed by Three Different In Vitro Assays. **Journal Nutrition**, 133, 2812-2819, 2003.

PENNINCKX, M. A short review on the role of glutathione in the response of yeasts to nutritional, environmental and oxidative stress. **Elsevier**, Enzyme and Microbial Technology, 26 (9-10), p.737-759, 1999.

PEREIRA, M. C.; STEFFENS, R. S.; JABLONSKI, A.; HERTZ, P. F.; RIOS, A. O.; VIZZOTTO, M.; FLÔRES, S. H. Characterization and antioxidant potential of Brazilian fruits from the Myrtaceae Family. **Journal of Agriculture and Food Chemistry**, v.60, 9. 3061-3067, 2012.

PÉREZ-JIMÉNEZ, J.; SAURA-CALIXTO, F. Effect of solvent and certain food constituents on different antioxidant capacity assays. **Food Research International**, v. 39, n. 7, p. 791–800, 2006.

PERRICONE, C.; DE CAROLIS, C.; PERRICONE, R. Glutathione: A key player in autoimmunity. **Autoimmunity Reviews**. 8, p. 697–701, 2009.

PICCOLI, G.; FIORANI, M.; BIAGIARELLI, E. Simultaneous high-performance capillary electrophoretic determination of reduced and oxidized glutathione in red blood cells in the femtomole range. **Journal Chromatography A**, 676, 239-246, 1994.

PIETTA, P. G. Flavonoids as antioxidants. **Journal of Natural Products**, 63, 1035-1042, 2000.

PISOSCHI, A. M.; CHEREGI, M. C.; DANET, A. F. Total antioxidante capacity of some commercial fruit juices: electrochemical and spectrophotometrical approaches. **Molecules**, v. 14, p. 480-493, 2009.

PRADO, A. Composição fenólica e atividade antioxidante de frutas tropicais. Piracicaba, 2009. 106 p. Dissertação de mestrado. Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”, 2009.

PRIOR et al. Assays for hydrophilic and lipophilic antioxidante capacity (oxygen radical absorbance capacity (ORAC_{FL})) of plasma and other biological and food samples. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, 51 (11), 3273-3279, 2003.

PRIOR, R.L.; WU, X.; SCHAICH, K. Standardized methods for the determination of antioxidant capacity and phenolics in foods and dietary supplements. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v.53, p.4290-4302, 2005.

PRIPS-NOCOLAU, L. REVEL, G. MARCHAND, S.; BELOQUI, A. A. BERTRAND, A. Automated HPLC method for measurement of free amino acids including cysteine in musts and wine. First applications. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, 81: 731-738, 2001.

PULLAR, J. M.; VISSERS, M. C.; WINTERBOURN, C. C. Glutathione oxidation by hypochlorous acid in endothelial cells produces glutathione sulfonamide as a major product but not glutathione disulfide. **Journal of Biological Chemistry**, 276, 22120, 2001.

RAGGI, M. A.; NOBILE, L.; GIOVANNINI, A. G. Spectrophotometric determination of glutathione and of its oxidation product in pharmaceutical dosage forms. **Journal of Pharmaceutical & Biomedical Analysis**, v. 9, n.10-12, 1037-1040, 1991.

RAHMAN, M. S. Food Properties Handbook, Second Edition.

RE, R.; PELLEDRINI, N.; PROTEGGENTE, A.; PANNALA, A.; YANG, M.; RICE-EVANS, C. Antioxidant activity applying an improved ABTS radical cation decolorization assay. **Free Radical Biology & Medicine**, v. 26, p. 1231-1237, 1999.

REED, D. J.; FARISS, M. W. Glutathione depletion and susceptibility. **Pharmacological Reviews**. 36, 25S-33S, 1994.

REED, D.J.; BABSON, J.R.; BEATTY, P. W.; BRODIE AE, EllisWW, Potter DW. High-performance liquid chromatography analysis of nanomole levels of glutathione, glutathione disulfide, and related thiols and disulfides. **Analytical Biochemistry**, 1980; 106:55– 62.

REEVE, J.; KUHLENKAMP, J. Estimation of glutathione in rat liver by reversed-phase high performance liquid chromatography: separation from cysteine and γ -glutamylcysteine. **Journal Chromatography**, 194:424– 8, 1980.

REIS, P. S.; FERREIRA, S. L. C.; CARVALHO, R. D. S.; CONCEIÇÃO, M. F. B. Determinação da composição centesimal da polpa do melão Coroá (Sicana Odorifera Naud). 32a Reunião Anual da Sociedade Brasileira de Química, 2008.

RELLÁN-ÁLVAREZ, R.; HERNÁNDEZ, L. E.; ABADIA, J.; ÁLVAREZ-FERNÁNDEZ, A. Direct and simultaneous determination of reduced and oxidized glutathione and homogluthathione by liquid chromatography-electrospray/mass spectrometry in plant tissue extracts. **Analytical Biochemistry**, 356, p. 254-264, 2006.

RESENDE, G. M.; COSTA, N. D. Sistema de Produção de Melão. Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária – Embrapa, 2010.

REYNERSTON, K. A.; YANG, H.; JIANG, B.; BASILE, M. B.; KENNELLY, E. J. Quantitative analysis of antiradical phenolic constituents from fourteen edible Myrtaceae fruits. **Food Chemistry**, v. 109, n. 4, p. 883-890, 2008.

RIBEIRO, S. M. R. A formação e os efeitos das espécies reativas de oxigênio no meio biológico. **Bioscience Journal**, v.21, n.3, p.133-149, setembro/dezembro, 2005.

RICHIE, Jr. J. P.; LANG, C. A. The determination of glutathione, cyst(e)ine and other thiols and disulfides in biological samples using high-performance liquid chromatography with dual electrochemical detection. **Analytical Biochemistry** 163, 9-15, 1987.

ROBINSON, R. W.; DECKER-WALTERS, D. S. **Curcubits**, n.6, p. 240, 1997.

ROBINSON, R.W.; DECKER-WALTERS, D.S. **Cucurbits**. Cambridge: CAB International, p. 226, 1999.

RODRIGUES, M. I.; IEMMA, A. F. **Planejamento de Experimentos e Otimização de Processos**. Casa do Pão Editora, 2014 (3ª. edição).

RODRÍGUEZ-AMAYA, D.B. Brazil: a bounty of carotenoid source. **Sight and life newsletter**, v.4, p.3-9, 2002.

RODRÍGUEZ-AMAYA, D.B. Latin american food sources of carotenoids. **Archivos Latinoamericanos de Nutrición**, v. 49, n.1, p. 74-84, 1999.

RODÍGUEZ-PÉREZ, C.; QUIRANTES-PINÉ, R.; SEGURA-CARRETERO, A.; FERNÁNDEZ-GUTIERREZ, A. Comparative characterization of phenolic and other polar compounds in Spanish melon cultivars by using high-performance liquid chromatography coupled to electrospray ionization quadrupole-time of flight mass spectrometry. **Food Research International**, 54, p.1519-1527, 2013.

ROGINSKY, V.; LISSI, E.A. Review of methods to determine chain breaking antioxidant activity in food. **Food Chemistry**, v. 92, p. 235-254, 2005.

ROMERO F. J.; MUELLER-KLIESER, W. Semiquantitative bioluminescent assay of glutathione. **Journal Bioluminescence Chemiluminescence** 13, 263-266, 1998.

ROSSI, R.; MILZANI, A.; DALLE-DONE, I.; GIUSTARINI, D.; LUSINI, L.; COLOMBO, R.; DI SIMPLICIO, P.; **Clinical Chemistry**, 48, 742, 2002.

ROTH, E.; OEHLER, R.; MANHART, N.; EXNER, R.; WESSNER, B.; STRASSER, E.; SPITTLER, A. Regulative potential of glutamine – relation to glutathione metabolism. **Nutrition**, v.18, n. 3, p. 217-221, 2002.

ROVER JR, I.; HÖEHR, N. F.; VELLASCO, A. P.; KUBOTA, L. T. Sistema antioxidante envolvendo o ciclo metabólico da glutathione associado a métodos eletroanalíticos na avaliação do estresse oxidativo. **Química Nova**, 24 (1), p.111-119, 2001.

SAETRE, R.; RABENSTEIN, D. L. Determination of Cysteine and Glutathione in Fruit by High-Performance Liquid Chromatography. **Journal Agriculture Food Chemistry**, 26 (4), 982-983, 1978.

SALANDANAN, K.; BUNNING, M.; STONAKER, F.; KÜLEN, O.; KENDALL, P. STUHNOFF, C. Comparative Analysis of Antioxidant Properties and Fruit Quality Attributes of Organically and Conventionally Grown Melons (*Cucumis melo* L.). **HortScience**, 44 (7): 1825-1832, 2009.

SALDANHA, L. A. Avaliação da atividade antioxidante *in vitro* em extratos de erva mate (*Ilex paraguariensis*) verde e tostada e chá verde (*Camélia sinensis*). Dissertação (Mestrado), Universidade de São Paulo, 2005.

SALUNKE, D. K.; DESAI, B. B. **Postharvest biotechnology of vegetables**. Flórida, CRC Press, v. 2, 1984, 194 p.

SÁNCHEZ-RANGEL, J. C.; BENAVIDES, J.; HEREDIA, J. B.; CISNEROS-ZEVALLOS, L.; JACOBO-VELÁZQUEZ, D. A. The Folin–Ciocalteu assay revisited:

improvement of its specificity for total phenolic content determination. **Analytical Methods**, 5, 5990-5999, 2013.

SANCHO, R. A. S., PAVAN, V., PASTORE, G. M. Effect of *in vitro* digestion on bioactive compounds and antioxidant activity of common bean seed coats. **Food Research International**, 76. 74-78, 2015.

SANDERS, T.A.B. Dietary Fat – Weighing up the Pros and Cons. **Nutrition and Food Science**, v. 94, n. 5, p. 9-13, set/out., 1994.

SANTOS, H. P. dos. Influência da sanificação sobre a qualidade de melão Amarelo (*Cucumis melo* L.) minimamente processado. 2003, 80p. Dissertação (Mestrado em Ciência dos Alimentos) – Universidade Federal de Lavras, Lavras, MG, 2003.

SCHAICH K. M.; TIAN, X.; XIE, J. Hurdles and pitfalls in measuring antioxidant efficacy: A critical evaluation of ABTS, DPPH, and ORAC assays. **Journal of Functional Foods**, v. 14, 111-125, 2015.

SCHOTT, K. L.; CHARÃO M. F.; VALENTIN, J.; CASSOL, J.; GARCIA, S. C. POMBLUM, V. J.; BOHRER, D. Influência de desproteinizantes ácidos na quantificação da glutatona reduzida eritrocitária por CLAE-UV. **Química Nova**, vol. 30, n. 3, 592-596, 2007.

SEERAM, N. P. & NAIR, M. G. Inhibition of lipid peroxidation and structure-activity related studies of the dietary constituents anthocyanins, anthocyanidins, and catechins. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, 47, 5064-5067, 2002.

SERRU, V.; BAUDIN, B.; ZIEGLER, F.; DAVID, J. P.; CALS, M. J.; VAUBOURDOLLE, M.; Mario, N. Quantification of reduced and oxidized glutathione in whole blood samples by capillary electrophoresis. **Clinical Chemistry**. 2001, 47, 1321-13

SERVIÇO NACIONAL DE APRENDIZAGEM RURAL - SENAR. **Cultivo de melão: manejo, colheita, pós-colheita e comercialização**. Brasília: SENAR, 104 p. (Coleção SENAR), 2007.

SHING, R. P.; SHARAD, S.; KAPUR, S. Free radicals and oxidative stress in neurodegenerative diseases: relevance of dietary antioxidants. **Journal Indian Academy of Clinical Medicine**, 5 (3), 218-25, 2002.

SIES, H. Biochemistry of Oxidative Stress. **Angewandte Chemie International**, 25, 1058, 1986.

SIES, H.; STAHL, W. Vitamins E and C, beta-carotene, and other carotenoids as antioxidants. **American Journal of Clinical Nutrition**, v.62, n.6, p.1315-21, 1995.

SIES, H. Total antioxidant capacity: appraisal of concept. **Journal Nutrition**, 137, 1493-1495, 2007.

SILVA, L. M. M.; FIGUEIREDO, R. M. F.; SOUSA, F. C.; SOUSA, E. P.; LIMA, A. K. V. O. Parâmetros químicos, físicos e físico-químicos de três variedades de melão. *Revista Verde (Mossoró – RN – Brasil)*, v.6, n.5, p. 242-246, 2011.

SILVA, R.A. BEZERRA NETO, F.; NUNES, G.H.S.; NEGREIROS, M.Z. Estimação de parâmetros e correlações em famílias de meio-irmãos de melões Orange Flesh HTC. *Caatinga* 15 (1/2): 43-48, 2002.

SILVA, S.; TASSARA, H. **Frutas Brasil frutas**. São Paulo: Empresa das Artes, 321 p., 2005.

SILVA, A. C.; JORGE, N. Bioactive compounds of the lipid fractions of agroindustrial waste. **Food Research International**, 66, 493-500, 2014.

SIMARELLI, M. Frutas do Brasil. **Frutas e derivados**. 1. Ed. Ano 1. Abr. 2006.

SINGLETON, V. L.; ORTHOFER, R.; LAMUELA-RAVENTOS, R. M. Analysis of total phenols and other oxidation substrates and antioxidants by means of folin-ciocalteu reagent **Methods in Enzymology**. v.299, 152-178, 1999.

SHING, R. P.; SHARAD, S.; KAPUR, S. Free radicals and oxidative stress in neurodegenerative diseases: relevance of dietary antioxidants. **Journal Indian Academy Clinical Medicine**, 5 (3), 218-25, 2002.

SOBRINHO, R. B.; GUIMARÃES, J. A.; FREITAS, J. A. D.; TERÃO, D. Organizadores. **Produção Integrada de melão**, Embrapa Agroindústria Tropical, Fortaleza, 338 p., 2008.

SUCUPIRA, N. R.; da SILVA, A. B.; PEREIRA, G; da COSTA, J. N. Métodos para determinação da atividade antioxidante de frutos. **UNOPAR Científica Ciências Biológicas da Saúde**, 14 (4): 263-9, 2012.

SUTARIYA, V; WEHRUNG, D.; GELDENHUYS, W. J. Development and Validation of a Novel RP-HPLC Method for the Analysis of Reduced Glutathione. **Journal of Chromatographic Science**, 50, p. 271-276, 2012.

SVARDAL, A.M.; MANSOOR, M. A.; UELAND, P.M. Determination of reduced, oxidized, and protein-bound glutathione in human plasma with pre-column derivatization with monobromobimane and liquid chromatography. **Analytical Biochemistry**, 184: 338– 46, 1990.

SZAMOSI, C.; LUGOSI, A.; NÉMETHY UZONI, H.; STEFANOVITS-BÁNYAI, É. Nutritional values of traditional open-pollinated melon (*Cucumis melo* L.) and watermelon (*Citrullus lanatus* [Thumb]) varieties. **International Journal of Horticultural Science**. 13 (2), p. 29–31, 2007.

TACO. UNIVERSIDADE ESTADUAL DE CAMPINAS – UNICAMP. **Tabela Brasileira de Composição de Alimentos**: 4 ed. Campinas, 2011. Disponível em: <http://www.unicamp.br/nepa/taco/contar/taco_4_edicao_ampliada_e_revisada>. Acesso em: 15/03/2017.

TADMOR, Y. et al. Genetics of flavonoid, carotenoid, and chlorophyll pigments in melon fruit rinds. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, 58,10722-10728, 2010.

TAPIERO, H; TOWNSEND, D. M.; TEW, K. D. The role of carotenoids in the prevention of human pathologies. **Biomedicine & Pharmacotherapy**, v. 58 (2), p. 100-110, 2004.

TIETZE, F. Enzymatic method for quantitative determination of nanogram amounts of total and oxidized glutathione: application to mammalian blood and others tissues. **Analitical Biochemistry**, 27, 502-522, 1969.

TORRES, M. A.; NETO, P. C. Determinação do índice redox de glutathione, um biomarcador de contaminação marinha em algas, utilizando HPLC acoplado a um detector eletroquímico flow-trough. **Revista Analytica**, n. 30, p. 96-104, 2007.

TOWNSEND, D. M.; TEW, K. D.; TAPIERO, H. The importance of glutathione in human disease. **Biomedicine & Pharmacotherapy**, n. 55, p. 145-155, 2003.

UENO et al. Dietary glutathione protects rats from diabetic nephropathy and neuropathy. **Journal of Nutrition**, 132, 897-900, 2002.

USDA. **Composition of Foods Raw, Processed, Prepared. U.S. Department of Agriculture**. Agriculture Handbook. 8 ed. 1963.

VALLKO, M.; LEIBFRITZ, D.; MONCOL, J.; CRONIN, M. T.; MAZUR, M.; TELSER, J. Int. **Journal of Biochemistry and Cell Biology** 39, 44, 2007.

VALMORBIDA, J. L.; VITOLO, M. R. Factors associated with low consumption of fruits and vegetables by preschoolers of low sócio-economic level. **Jornal de Pediatria**, v. 90, p.464-471, 2014.

VASCONCELOS, S. M. L.; GOULART, M. O. F.; MOURA, J. B. F.; MANFREDINI, V. BENFATO, M. S.; KUBOTA, L. T. Espécies reativas de oxigênio e de nitrogênio, antioxidantes e marcadores de dano oxidativo em sangue: principais métodos analíticos para sua determinação. **Química Nova**, Vol. 30, No. 5, 1323-1338, 2007.

VILAS, A.T. Oportunidades da fruticultura brasileira nos mercados interno e externo. **Fruticultura em revista**, Belém: Agência Ver, nov., p.6-12, 2002.

VILLANUEVA, M. J.; TENORIO, M. D.; ESTEBAN, M. A.; MENDOZA, M. C. Compositional changes during ripening of two cultivars of muskmelon fruits. **Food Chemistry**, Amsterdam, v. 87, p. 179-185, 2000.

VINSON, J. A.; SU, X.; ZUBIK, L.; BOSE, P. Phenol antioxidant quantity and quality in foods: fruits. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, Easton, v. 49, p.5315-5321, 2001.

VOULDOUKIS et al.. Antioxidant and anti-inflammatory properties of a *Cucumis melo* LC. extract rich in superoxide dismutase activity. **Journal of Ethnopharmacology**, 94, p.67-75, 2004

VULCANO, L. A. D.; SORACI, L. S.; TAPIA, M. O. Glutathione homeostasis. **Acta bioquímica clínica latinoamericana**, 47 (3): 529-539, 2013.

XIE, J.; SCHAICH, K. M. Re-evaluation of the 2,2-dyphenyl-1-picrylhydrazyl free radical (DPPH) assay for antioxidant activity. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, 62, 4251-4260, 2014.

ZENEBON, O.; PASCUET, N. S. (Coord.). Métodos físico-químicos para análise de alimentos. 4^a ed. Brasília: Ministério da Saúde/ANVISA São Paulo: Instituto Adolfo Lutz, 2005.

ZHANG, S., HUANG, F., ZHAO, J., WEN, L., ZHOU, F., YANG, P. Determination of thiols in urinary sample by capillary-column liquid chromatography with amperometric detection at a carbon electrode. **Talanta**, 58, 451-458, 2002.

ZHAO, X. et al. Modification of lymphocyte DNA damage by carotenoid supplementation in postmenopausal women. **American Journal of Clinical Nutrition**, v. 83, n. 1, p. 163-169, 2006.

ZIMMERMANN, A. M.; KIRSTEN, V. R. Alimentos com função antioxidante em doenças crônicas: uma abordagem clínica. **Disciplinarum Scientia**. Série: Ciências da Saúde, Santa Maria, v. 9, n. 1, p. 51-68, 2008.

WANG, H.; CAO, G.; PRIOR, R. L. Total antioxidant capacity of fruits. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v.44, p.701-705, 1996.

WEISS, C.; SANTOS, M. **A Logística de Distribuição e as Perdas ao Longo da Cadeia Produtiva das Frutas Frescas**. In: CONGRESSO VIRTUAL BRASILEIRO - ADMINISTRAÇÃO, 9, 2012, São Paulo. Anais... São Convima, p. 2, 23 a 25 de novembro de 2012, disponível em: <http://www.convibra.org/upload/paper/2014/30/2014_30_10162.pdf> Acesso em: 8 fev. 2016.

WHITE, J. A.; HART, R. J.; FRY, J. C. An evaluation of the Waters Pico-Tag system for the amino-acid analysis of food materials. **The Journal of Automatic Chemistry**, v.8, n.4, p. 170-177, Oct-Dec., 1986.

WOLBANG, C. A.; SINGH, D. P.; SYKES, S. R.; MCINERNEY, J. K.; BIRD, A. R.; TREEBY, M. T. Influence of pre- and postharvest factors on β -carotene content, its in vitro bioaccessibility, and antioxidant capacity in melons. **Journal of Agriculture and Food Chemistry** 58(3), 1732–1740, 2010.

WOLFE, K. L.; KANG, X.; HE, X.; DONG, M.; ZHANG, Q.; LIU, R. H. Cellular antioxidant activity of common fruits. **Journal of Agriculture and Food Chemistry**, 56:8418- 8426, 2008.

WU, G.; FRANG, Y. Z.; YANG, S.; LUPTON, J. R.; TURNER, N. D. Glutathione metabolism and its implications for health. **Journal Nutrition**, 134: 489-92, 2004.

WU, X.; BEECHER, G. R.; HOLDEN J. M.; HAYTOWITZ, D. B.; GEBHARDT, S. E., AND PRIOR, R. L. Lipophilic and hydrophilic antioxidant capacities of common foods in the United States. **Journal of Agriculture and Food Chemistry**, V. 52, p. 4026-4037, 2004.

YILMAZ, O.; KESER, S.; TUZCU, M.; GUVENC, M.; ÇETINTAS, B.; IRTEGUN, S.; TASTAN, H.; SAHIM, K. A practical HPLC method reduced (GSH) and oxidized (GSSG) glutathione concentrations in animal tissues. **Journal of Animal and Veterinary Advances**, 8 (2), p. 343-347, 2009.

YANO et al. Quantiationof carotenoids in raw and processed fruitsin Japan. **Food Science and Techonology Research**, 11 (1), 13-18, 2005.

YOSHIDA, T. Determination of reduced and oxidized glutathione in erythrocytes by high-performance liquid chromatography. **Journal Chromatography B: Analiytical Technologies Biomedine Life Science**, 678, p.157-164,1996.

YU, J.; LI, C.; SHEN, S.; LIU, X.; PENG, Y.; ZHENG, J. Mass spectrometry based detection of glutathione with sensitivity for single-cell analysis. **Rapid Communications in Mass Spectrometry**, Apr 15; 29(7):681-9, 2015.