### UNIVERSIDADE ESTADUAL DO OESTE DO PARANÁ CAMPUS DE MARECHAL CÂNDIDO RONDON

#### CRISTIANE PAULUS

RESPOSTA ANTIOXIDANTE, ENZIMÁTICA E FISIOLÓGICA DO TOMATE-CEREJA (Solanum lycopersicum var. cerasiforme) SUBMETIDO AO CHOQUE TÉRMICO

MARECHAL CÂNDIDO RONDON- PARANÁ 2016

#### **CRISTIANE PAULUS**

# RESPOSTA ANTIOXIDANTE ENZIMÁTICA, RESPIRATORIA E FISIOLÓGICA DO TOMATE-CEREJA (Solanum lycopersicum var. cerasiforme) SUBMETIDO AO CHOQUE TÉRMICO

Dissertação apresentada à Universidade Estadual do Oeste do Paraná, como parte das exigências do Programa de Pós Graduação em Agronomia, para obtenção do título de *Magister Scientiae*.

Orientador: Prof. Dr. Gilberto Costa Braga.

MARECHAL CÂNDIDO RONDON - PARANÁ 2016

#### Dados Internacionais de Catalogação-na-Publicação (CIP)

#### P333r

Paulus, Cristiane

Resposta antioxidante, enzimática e fisiológica do tomate-cereja (*Solanum lycopersicum* var. cerasiforme) submetido ao choque térmico ./Cristiane Paulus. Marechal Cândido Rondon, 2016.

58 p.

Orientador: Prof. Dr. Gilberto Costa Braga

Dissertação (Mestrado) – Universidade Estadual do Oeste do Paraná, Campus de Marechal Cândido Rondon, 2016 Programa de Pós-Graduação Stricto Sensu em Agronomia

1. Tomate-cereja. 2. Calor. 3. Superóxido dismutase. 4. Catalase. 5. Ascorbato peroxidase. I. Braga, Gilberto Costa. II. Universidade Estadual do Oeste do Paraná. III. Título.

CDD 21.ed. 635.642 CIP-NBR 12899

Ficha catalográfica elaborada por Helena Soterio Bejio – CRB 9ª/965

#### **CRISTIANE PAULUS**

# RESPOSTA ANTIOXIDANTE ENZIMÁTICA, RESPIRATORIA E FISIOLÓGICA DO TOMATE-CEREJA (Solanum lycopersicum var. cerasiforme) SUBMETIDO AO CHOQUE TÉRMICO

Dissertação apresentada à Universidade Estadual do Oeste do Paraná, como parte das exigências do Programa de Pós-Graduação em Agronomia – Nível Mestrado, para a obtenção do título de *Magister Scientiae*.

APROVADA EM 31 DE JANEIRO DE 2016.

Prof. Dr. Odair José Kuhn
UNIOESTE

Prof. Dra. Clair Aparecida Viecelli
PUC-PR

Prof. Dr. Gilberto Costa Braga
Orientador

**UNIOESTE** 

Dedico a minha família, em especial meu esposo e minha filha Isadora, meus pais, e meus irmãos, pelo incentivo e apoio proporcionado nesta fase.

#### **AGRADECIMENTOS**

A conclusão desta dissertação de mestrado só foi possível graças à participação de algumas pessoas especiais que fizeram parte durante este período. A estas pessoas, os meus sinceros agradecimentos, pois sem esse apoio não conseguiria sozinha. Agradeço:

Primeiramente à Deus, pelo dom da vida, sabedoria, saúde, humildade, segurança e conhecimentos necessários para enfrentar as dificuldades, superar os desafios e concluir esta etapa.

À Universidade Estadual do Oeste do Paraná – Unioeste, ao Programa de Pósgraduação em Agronomia – PPGA e ao Laboratório de Tecnologia de Alimentos, pela oportunidade de realizar as atividades do mestrado nesta instituição.

Aos meus pais Arlindo e Madalena, pelos ensinamentos da vida, pelo amor imensurável e incondicional.

Ao meu eterno namorado, Thiago, por ser paciente compreensivo nas necessidades geradas no período de ausência familiar e apoio nas horas difíceis.

Aos meus irmãos, que ao longo do meu curso me encorajaram e apoiaram moralmente.

À minha querida filha Isadora, que pela idade, desde pequena acompanhando e compreendendo as necessidades de ausência materna.

Ao Prof. Dr. Gilberto Costa Braga, pela orientação, ensinamentos e por ter concedido a oportunidade de concluir este trabalho.

Aos demais professores, principalmente o Prof. Dr. Odair José Kuhn e Dra. Clair Aparecida Viecelli, por acreditarem em mim, e pela oportunidade de aprendizado, incentivo, confiança e pela grande contribuição para os meus conhecimentos durante o curso.

Aos colegas, em especial Alice J. Moraes, Daiane Luckmann, Marcia B. Augustini, Jéssica C. Urbanski, Claudia Moura, Nicanor Pilarski, João Dranski e Letícia Wendt, pela ajuda e apoio em momentos necessários e precisos.

À Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES), pela concessão da bolsa de estudos.

A todos, mesmo que não estejam aqui citados que, direta ou indiretamente, colaboraram com este trabalho e com minha formação.

"Que os vossos esforços desafiem as impossibilidades, lembrai-vos de que as grandes coisas do homem foram conquistadas do que parecia impossível". **Charles Chaplin**.

#### **RESUMO**

PAULUS, Cristiane, Mestrado em Agronomia, Universidade Estadual do Oeste do Paraná, Janeiro de 2016. Resposta enzimática antioxidante, respiratória e fisiológica do tomate-cereja (Solanum lycopersicum var. cerasiforme) submetido ao choque térmico. Orientador: Dr. Gilberto Costa Braga.

Tratamentos pós-colheita com choque térmico têm sido estudado como técnica alternativa de extensão da vida útil de frutos. A ação benéfica dessa técnica tem sido relacionada com seus efeitos na indução de respostas fisiológicas de defesa contra estresses oxidativos e desenvolvimento de patógenos. As enzimas são os catalisadores das reações que ocorrem nos sistemas biológicos. Entretanto, embora sejam conhecidos os mecanismos pelos quais os tratamentos pós-colheita induzem este tipo de resposta nos órgãos vegetais, ainda não estão claramente elucidados os mecanismos induzidos pelo choque térmico pós-colheita que possam afetar o status antioxidante de frutos tratados. O objetivo deste trabalho foi avaliar o efeito do choque térmico na conservação pós-colheita de tomates-cereja, mediada por respostas bioquímicas e físico-químicas relacionadas à atividade enzimática antioxidante, atividade respiratória, compostos fenólicos, ácido ascórbico, sólidos solúveis, acidez total titulável, porcentagem de massa fresca, firmeza, cor da casca e degradação dos frutos. Os tomates-cereja foram submetidos aos tratamentos de choque térmico com imersão em água quente a 45 ± 2 °C nos tempos de 0, 5, 10, 15, 20 e 25 minutos. Após os tratamentos, os frutos foram divididos em dois grupos. O primeiro grupo foi armazenado a 20 ± 2 °C e, em intervalos de 1, 3, 6, 9 e 12 dias, amostras foram retiradas e submetidas a análises de cor, firmeza, perda de massa, compostos fenólicos totais, flavonoides totais, ácido ascórbico e sólidos solúveis totais. O segundo grupo foi submetido às avaliações de atividade respiratória, produção de etileno e atividade enzimática de superóxido dismutase, catalase e ascorbato peroxidase, nos intervalos de tempo de 0, 2, 6, 24 e 48 horas de armazenamento à 20 ± 2 °C. De acordo com os resultados, os frutos tratados com o choque térmico sofreram maior estresse respiratório a partir do sexto dia de armazenamento. Não houve diferença significativa entre os tratamentos para a firmeza, permanecendo a rigidez do fruto mesmo após 12º dias, e todos os tratamentos exibiram frutos com maior perda de massa, quando comparado ao controle. A aplicação dos tratamentos térmicos não alterou o teor de sólidos solúveis totais até o 6º dia, os tempos de exposição ao calor de 15 e 20 min tiveram maior efeito nos conteúdos de compostos fenólicos ao longo do armazenamento. Os frutos expostos ao calor expressaram conteúdos de flavonoides mais elevados do que o controle e não mostraram recuperação ou aumento na concentração de ácido ascórbico dos tomates-cereja em resposta aos tratamentos de choque térmico que pudessem indicar efeito supressor ao estresse. Com isso, apesar de possuir a capacidade de prolongar a vida útil do tomate-cereja, reduzindo a perda do fruto após o armazenamento, não se mostrou favorável para a sua utilização de forma a reduzir gastos para prolongar seu tempo de prateleira.

**Palavras-chave:** tomate-cereja, calor, superóxido dismutase, catalase, ascorbato peroxidase.

#### **ABSTRACT**

PAULUS, Cristiane, Master of Agronomy, University of the West of Paraná, in January 2016. **Antioxidant enzyme answer, respiratory and physiological of tomato-cherry (Solanum lycopersicum var. cerasiforme) submitted When thermal shock.** Advisor: Dr. Gilberto Costa Braga.

Post-harvest treatments with thermal shock have been studied as an extension of alternative technical life of fruit. The beneficial effect of this technique has been related to their effects on the induction of physiological responses in protection against oxidative stress and development of pathogens. Enzymes are catalysts of the reactions occurring in biological systems. However, although the mechanisms by which post-harvest treatments induce this type of response are known in the plant organs are not clearly elucidated the mechanisms induced by postharvest heat shock that may affect the antioxidant status of treated fruits. The objective of this study was to evaluate the effect of heat shock on postharvest cherry tomatoes conservation, mediated biochemical and physicochemical answers related to antioxidant enzyme activity, respiratory activity, phenolic compounds, ascorbic, soluble solids acid, titratable acidity, percentage of weight, firmness, skin color and degradation of the fruit. The cherry tomatoes were subjected to heat shock treatments immersed in hot water at 45 ± 2 ° C at times 0, 5, 10, 15, 20 and 25 minutes. After treatments, fruits were divided into two groups. The first group was stored at 20 ± 2 ° C and at intervals of 1, 3, 6, 9 and 12 days, samples were taken and subjected to color analysis, firmness, weight loss, total phenolics, total flavonoids acid ascorbic acid and total soluble solids. The second group was submitted to respiratory activity assessments. ethylene production and enzymatic activity of superoxide dismutase, catalase and ascorbate peroxidase, at time intervals of 0, 2, 6, 24 and 48 hours of storage at 20  $\pm$  2 ° C. According to the results, the fruits treated with heat shock suffered greater respiratory stress from the sixth day of storage. There was no significant difference between treatments for firmness, maintaining the rigidity of the fruit even after 12 days, and all treatments exhibited fruits with greater weight loss compared to the control. The application of heat treatment did not alter the total soluble solids content to the 6th day. heat exposure times of 15 and 20 min had a greater effect on the content of phenolic compounds during storage, exposed to heat fruits expressed the higher flavonoid content than the control and showed no recovery or increase in the concentration of ascorbic acid of cherry tomatoes in response to heat shock treatments that could indicate suppressive effect to stress. Thus, despite having the ability to prolong the life of cherry tomato. reducing the loss of the fruit after storage was not favorable for their use to reduce costs to prolong their shelf life.

**Keywords:** cherry tomato, heat, superoxide dismutase, catalase, ascorbate.

#### **LISTA DE FIGURAS**

Figura 1. Curva padrão para compostos fenólicos totais	29
Figura 2. Curva de calibração para quercetina com concentrações de 10 a 70 μg mL <sup>-1</sup>	30
Figura 3. Curva de calibração para determinação de proteínas	32
Figura 4. Perda de massa fresca e sólidos solúveis totais dos tomates-cereja submetid	eok
a diferentes tempos de choque térmico (45 °C)	38
Figura 5. Produção de etileno e respiração dos tomates-cereja submetidos a choque	Jes
térmicos (45 °C) em pré-armazenamento	43

#### **LISTA DE TABELAS**

Tabela 1. Códigos enzimáticos e reações catalisadas pelas enzimas superó	xido
dismutase, catalase e ascorbato peroxidase	19
Tabela 2. Índice de cor e firmeza dos tomates-cereja submetidos a diferentes tempo	s de
choque térmico (45 ºC)	36
Tabela 3. Compostos fenólicos totais, flavonoides totais e ácido ascórbico dos toma	ates-
cereja submetidos a diferentes tempos de choque térmico (45 °C)	41
Tabela 4. Atividade enzimática de tomates-cereja submetidos a diferentes tempos	s de
choque térmico (45 °C)	46

#### LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

AICI<sub>3</sub> cloreto de Alumínio

APX ascorbato peroxidase

CAT catalaseC₂H₄ etileno

CO<sub>2</sub> gás carbônico

**DCFI** 2- dicloro- fenol- indofenol

**EDTA** ácido etilenodiamino tetra-acético

**g** gravidade

H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> peróxido de hidrogênio

M molaridademin minutosmL mililitros

**mM** milimolar

N normalidade

N<sub>2</sub> nitrogênio líquido

Na<sub>2</sub>PO<sub>3</sub> fosfato de potássio

NBT azul de nitrotretazólio cloreto

**nm** nanômetros

**p** probabilidade

**PVPP** polivinilpolipirrolidona

SOD superóxido dismutase

μg microgramasμL microlitrosμΜ micromolar

**UR** unidade relativa

### SUMÁRIO

1.	INTRODUÇÃO	14		
2.	REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	16		
2.1.	Tomate-cereja	16		
2.2.	Atributos de qualidade	17		
2.3.	Sensibilidade ao etileno e CO <sub>2</sub>	18		
2.4.	Sistema antioxidante enzimático	18		
2.4.1.	Superóxido dismutase	19		
2.4.2.	Catalase	20		
2.4.3.	Ascorbato Peroxidase	21		
2.5.	Sistema antioxidante enzimático	21		
2.5.1.	Compostos fenólicos	21		
2.5.2.	Flavonoides	22		
2.5.3.	Ácido Ascórbico	22		
2.6.	Sólidos solúveis totais	23		
2.7.	Choque térmico	24		
3.	MATERIAL E MÉTODOS	26		
3.1.	Tratamento térmico, armazenamento e amostragem	26		
3.2.	Análises experimentais	27		
3.2.1.	Perda de massa, firmeza e cor da casca	27		
3.2.1.1.	Variação da perda de massa	27		
3.2.1.2.	Firmeza	27		
3.2.1.3.	Cor da Casca	27		
3.2.2.	Determinação de Sólidos Solúveis	28		
3.2.3.	Compostos fenólicos totais, flavonoides totais e ácido	•		
ascórbico		28		
3.2.3.1.	Preparo do Extrato	28		
3.2.3.2.	Compostos fenólicos totais	28		
3.2.3.3.	Flavonoides Totais	29		
3.2.3.4.	Ácido Ascórbico	30		
3.2.4.	Determinação da atividade superóxido dismutase (SOD),	,		
catalase (CAT) e ascorbato peroxidase (APX) 31				

3.2.4.1.	Extração das Proteínas	31		
3.2.4.2.	Quantificação das Proteínas	31		
3.2.4.3.	Superóxido Dismutase (SOD)	32		
3.2.4.4.	Catalase (CAT)			
3.2.4.5.	Ascorbato Peroxidase. (APX)			
3.2.5.	Respiração e Produção de Etileno	33		
3.3.	Análise estatística	34		
4.	RESULTADOS E DISCUSSÃO	35		
4.1.	Cor e firmeza dos tomates-cereja	35		
4.2.	Perda de massa e teor de sólidos solúveis	37		
4.3.	Compostos fenólicos totais, flavonoides totais e ácido	<b>o</b>		
ascórbico		39		
4.4.	Produção de Etileno e Respiração	42		
4.5.	Atividade de Superóxido Dismutase, Catalase e Ascorbato	)		
Peroxidase		45		
5.	CONCLUSÃO	48		
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS 4				

#### 1. INTRODUÇÃO

O tomate-cereja (Solanum Iycopersicum var. cerasiforme) vem se popularizando cada vez mais não só por ser atrativo, com sabor e aroma agradáveis, mas também pelo alto valor nutricional, uma vez que é boa fonte de minerais e de compostos com elevada atividade bioativa (BORGINI; TORRES, 2006). No entanto após a colheita esses frutos estão propensos à rápida deterioração fisiológica e microbiológica. Técnicas como refrigeração e atmosfera modificada são comumente utilizadas na conservação de frutos. Estudos têm mostrado que a qualidade pós-colheita de frutos pode ser melhor preservada pela aplicação de tratamentos de choques térmicos (McDONALD; McCOLLUM; BALDWIN, 1999; KLUGE et al. 2006; VICENTE et al., 2006; YAHIA et al., 2007; EDAGI, 2009; GONZALEZ-AGUILAR et al., 2010).

Os frutos geralmente são colhidos maduros expressando seu máximo de sabor, porém, o amadurecimento de tomates-cereja é um processo fisiológico, que continua durante a vida pós-colheita dos frutos, levando à sua senescência (ADAMS-PHILLIPS et al., 2004). Como resultado, os tratamentos pós-colheita e as condições de armazenamento podem promover um efeito significativo sobre a conservação e o valor nutricional dos tomates (JAVANMARDI; KUBOTA, 2006).

Um moderado estresse no fruto causado por um choque térmico pode promover respostas de defesa antioxidante e induzir alterações na produção de enzimas antioxidantes para inativar radicais de oxigênio, que são danosos às células (VICENTE et al., 2006).

O choque térmico sob a forma de curta ou moderada exposição, ao ar quente ou água quente, foi relatado pela primeira vez em 1922 para controlar degradação em frutas cítricas, e foi posteriormente estendido para a desinfestação de insetos, inibindo o processo de maturação, ou indução de resistência a danos por frio (ZHANG; NAKANO; MAEZAWA, 2009).

O choque térmico pode afetar uma ampla gama de processos metabólicos de frutos, tais como síntese de etileno, respiração, amolecimento e metabolismo da parede celular, e pode induzir também, como resposta secundária, alguns mecanismos que afetam a atividade metabólica do produto tratado, tal como a ativação do mecanismo antioxidante do fruto (ZHANG; NAKANO; MAEZAWA, 2009; GONZALEZ-AGUILAR et al.,

2010). Embora o choque térmico seja um tratamento de calor de curta duração, seus mecanismos de supressão da senescência do fruto envolvem a geração de estresse oxidativo, que resulta no acumulo de espécies reativas de oxigênio. (SRIVALLI; SHARMA; KHANNA-CHOPRA, 2003). No entanto, as células vegetais são equipadas com sistemas de defesa antioxidantes, em nível não enzimático, ou por ação de enzimas antioxidantes, como a superóxido dismutase (SOD), catalase (CAT), peroxidase (POD) e ascorbato peroxidase (APX), para controlar os níveis de radicais reativos de oxigênio e limitar o dano celular pelo estresse oxidativo (ZHANG et al., 2005; ARIEL et al., 2006; ALMESELMANI et al., 2006; GÁLVEZ et al., 2010).

Relatos têm demonstrado que o choque térmico com temperatura não letal, ao redor de 45 °C pode reduzir processos de degradação por patógenos e aumentar o período de armazenamento de frutos (VICENTE et al., 2002; WANG et al., 2004; YAHIA et al., 2007; SAUTER; RZEWUSKI, 2008). Embora os efeitos benéficos do uso de calor em frutos estejam relacionados à redução da carga microbiológica, indução da biossíntese de fitoalexinas e até atraso da perda da firmeza (LUNARDI; SEIBERT; PEZZI, 2002), há também relatos de perda de peso, alteração de cor da casca e polpa, aumento da síntese de etileno e, consequentemente, aumento da atividade respiratória (SAUTER; RZEWUSKI, 2008; KLUGE et al., 2006).

A ativação do sistema antioxidante como uma resposta ao estresse pós-colheita pode resultar na melhoria da capacidade antioxidante de frutos. Entretanto, embora sejam conhecidos os mecanismos pelos quais os tratamentos pós-colheita induzem este tipo de resposta nos órgãos vegetais, ainda não estão claramente elucidados os mecanismos induzidos pelo choque térmico pós-colheita que possam afetar o status antioxidante de frutos tratados.

Diante do exposto, o objetivo deste trabalho foi avaliar o efeito do choque térmico, em diferentes tempos de imersão em água quente, na resposta antioxidante, na fisiologia e na qualidade do tomate-cereja armazenado, sendo avaliada a atividade das enzimas superóxido dismutase (SOD), catalase (CAT) e ascorbato peroxidase (APX), a produção de etileno e a respiração, as características químicas e físicas como compostos fenólicos totais, flavonoides totais, ácido ascórbico, sólidos solúveis, perda de massa, firmeza e coloração dos frutos de tomates-cereja durante o seu armazenamento.

#### 2. REVISÃO DE LITERATURA

#### 2.1. Tomate-cereja

Os frutos de tomate-cereja (*Solanum lycopersicum* var. cerasiforme) estão cada vez mais presentes no mercado. Os frutos são colhidos comercialmente na fase de préclimatério e sua conservação pós-colheita depende das condições de armazenamento. Assim, possui uma demanda comercial continuamente crescente pelas características de qualidade importantes tais como elevada matéria seca, dimensões reduzidas, baixo peso e níveis mais elevados de sólidos solúveis, comparado com frutos de tamanho normal de tomate. Além disso, devido aos seus níveis mais elevados de açúcares e ácidos orgânicos, o tomate-cereja apresenta um sabor mais doce e aroma mais agradável (RAFFO et al., 2002).

O tomate é originário da costa oeste da América do Sul, onde as temperaturas são moderadas (médias de 15 °C a 19 °C) e as precipitações pluviométricas não são muito intensas. Entretanto, floresce e frutifica em condições climáticas bastante variáveis. A planta pode desenvolver-se em climas do tipo tropical de altitude, subtropical e temperado, permitindo seu cultivo em diversas regiões do mundo. O tomateiro é uma solanácea herbácea, com caule flexível e incapaz de suportar os pesos dos frutos e manter a posição vertical (SILVA et al., 2006).

O tomate-cereja é classificado como fruto climatérico, por apresentar um aumento na intensidade respiratória, relacionadas ao seu amadurecimento, está entre os produtos agrícolas recordistas em perdas, em razão da sua elevada perecibilidade (CHITARRA; CHITARRA, 2005).

A taxa respiratória aumenta à medida que se incrementa a temperatura. De modo geral, quando a temperatura aumenta em 10°C, a intensidade respiratória aumenta, em média, de duas a três vezes. Acima de 35°C a intensidade respiratória diminui devido ao um bloqueio no sistema enzimático (SANTOS et. al., 2007).

Os tratamentos pós-colheita de frutos de tomates-cereja envolvem o armazenamento por alguns dias próximo à área plantada, posterior transporte em

caminhões refrigerados próximos 10 °C, e armazenamento em geladeiras domésticas até o consumo. (KIRKLAND; CLARKE; PAULL, 2009).

#### 2.2. Atributos de qualidade

Segundo Abbott (1999), a qualidade de um fruto está relacionada com suas propriedades sensoriais (aparência, textura, aroma e sabor), valor nutricional, constituintes químicos, propriedades mecânicas, propriedades funcionais e defeitos. Os atributos de qualidade dos frutos estão na dependência de suas características físicas, físico-químicas e químicas que são peculiares a cada espécie e cultivar, estando também em função do clima, solo e tratos culturais. Dentro de cada cultivar, os frutos modificam estas características durante o processo de amadurecimento (ALVARENGA; FORTES, 1985; CHITARRA; CHITARRA, 2005).

A qualidade do tomate-cereja depende de suas características físicas, físico-químicas e químicas que influenciam na sua atratividade ao consumidor. A coloração de tomate-cereja é uma das características externas mais importantes para avaliar a maturação e a vida pós-colheita do fruto. Estas características também são indicativos de sua qualidade organoléptica e nutricional das quais a pectina total, pectina solúvel, relação sólidos solúveis/acidez, acidez titulável, vitamina C e açúcares redutores são importantes indicadores (CARVALHO et al.,2005, CARDOSO et al.,2006).

O valor nutricional é um dos principais fatores que conduzem ao interesse crescente pelo consumo de frutos in natura. Estes são altamente recomendados, pela riqueza em carboidratos, fibras, minerais, vitamina C, carotenoides, substâncias fenólicas, dentre outras, e pela ação antioxidante, que contribuem para manter o equilíbrio entre a produção e a eliminação de espécies reativas de oxigênio e outros compostos relacionados (MAIA: SOUSA: LIMA, 2007).

Durante o amadurecimento, os sólidos solúveis e os açúcares totais aumentam drasticamente (PAULL; CHEN; DEPUTY, 1984), onde as diferenças entre a proporção destes açúcares são resultado de diferenças da atividade de invertases, maturação e cultivar. Tem-se observado também, aumento nos teores de pectina, total e solúvel em água, durante o amadurecimento, com declínio dos ácidos pécticos solúveis (SINGH; ABIDI, 1986).

#### 2.3. Sensibilidade ao etileno e CO<sub>2</sub>

Na maturação ocorrem mudanças físicas, químicas, bioquímicas e fisiológicas, resultando em transformações detectáveis que agem nos atributos de cor, sabor, aroma e textura, influenciam o período pós-colheita e a qualidade do fruto armazenado (MALGARIM et al., 2007).

O etileno está envolvido em numerosos processos como crescimento e desenvolvimento das plantas, germinação das sementes, além da senescência e morte da planta. A resposta dos frutos ao etileno é controlada por um estado fisiológico dos tecidos. Tecidos maduros são mais sensíveis ao etileno do que os frutos jovens. Este fenômeno tem sido observado em tomates e muitos outros frutos (ÀLVARES, 2003).

O aumento natural na produção do etileno pode preceder ao amadurecimento, catalisando o climatérico respiratório, o qual, possivelmente da o suporte energético para as rápidas transformações na aparência, no aroma e na textura tornando os frutos prontos para serem consumidos. A presença do etileno é indesejável durante o transporte e o armazenamento de frutos, sendo considerado um dos grandes vilões pós-colheita, pois compromete a qualidade de frutos climatéricos e não climatéricos por conduzi-los a senescência (SENHOR et al, 2009).

A respiração e taxas de evolução de etileno em frutos vermelhos maduros podem aumentar pelo tratamento com choque térmico, onde há taxas maiores em frutos não refrigerados em comparação com frutos refrigerados (McDONALD; McCOLLUM; BALDWIN, 1999).

#### 2.4. Sistema antioxidante enzimático

As enzimas são os catalisadores das reações que ocorrem nos sistemas biológicos. Elas têm eficiência catalítica extraordinária, em geral muito maior que aquela dos catalisadores sintéticos; têm um alto grau de especificidade por seus substratos e aceleram reações químicas específicas (LEHNINGER et al., 1995).

Os principais agentes de defesa antioxidantes enzimáticos incluem as enzimas peroxidase (POD), superóxido dismutase (SOD), catalase (CAT), ascorbato peroxidase (APX) (Tabela 1) (GÁLVEZ et al., 2010). A catalase desempenha importante papel na eliminação do H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>, promovendo a sua redução até formação de água. O estresse pelo

frio ou congelamento também estão ligados à produção de EROS (espécies reativas de oxigênio), enquanto plantas sem climatização estão associadas com atividades enzimáticas como APX (SUZUKI; MITTLER, 2006).

**Tabela 1:** Códigos enzimáticos e reações catalisadas pelas enzimas superóxido dismutase, catalase e ascorbato peroxidase.

Antioxidante enzimático	Código da enzima	Reação catalisada
Superóxido dismutase	EC 1.15.1.1	$O_2^- + O_2^- + 2H^+ \rightarrow 2 H_2O_2 + O_2$
Catalase	EC 1.11.1.6	$H_2O_2 \rightarrow H_2O + \frac{1}{2}O_2$
Ascorbato peroxidase	EC 1.11.1.11	$H_2O_2 + AA \rightarrow 2 H_2O + DHA$

#### 2.4.1. Superóxido Dismutase

As enzimas superóxido dismutase (SOD; EC 1.15.1.1) atua no inicio da defesa antioxidante nas células vegetais, catalisando a dismutação do íon superóxido  $(O_2^-)$ , gerando peroxido de hidrogênio  $(H_2O_2)$  e hidrogênio molecular (Tabela 1). (ALSCHER; DONAHUE; CRAMER, 1997; SCANDALIOS, 2005; RESENDE et al., 2012).

A superóxido dismutase (SOD) tem papel fundamental na defesa do organismo contra as espécies reativas de oxigênio, pois atua na remoção do radical superóxido. Antes da sua descoberta, a SOD já havia sido descrita por alguns autores como uma proteína que contém cobre, mas nenhuma atividade catalítica lhe havia sido atribuída (HALLIWELL; GUTTERIDGE, 1989).

Presente em organismos vegetais, esta enzima caracteriza um grupo de metaloenzimas que catalisam a formação de  $H_2O_2$  a partir de  $O_2$ , consumindo-o, e assim, livrando as células do risco de oxidação por esses radicais. As superóxido dismutase são classificadas em três grupos, de acordo com o cofator metálico enzimático, que pode ser cobre/zinco (Cu/Zn - SOD), manganês (Mn - SOD) ou ferro (Fe - SOD) (MITTLER, 2002).

A Cu/Zn-SOD é encontrada no estroma dos cloroplastos, a Mn-SOD e a Fe-SOD são encontradas tantos em células eucarióticas quanto em procarióticas, na matriz mitocondrial induzida pela produção de etileno das plantas (RESENDE et al., 2012).

#### 2.4.2. Catalase

As catalases (CAT) são enzimas tetraméricas que catalisam a conversão do peroxido de hidrogênio a água e oxigênio molecular (Tabela 1), através da oxidação do cofator heme encontrada em todos os organismos vivos. As plantas possuem três genes codificadores de catalases, os quais são classificados de acordo com os locais onde são expressos: os genes de classe I codificam proteínas presentes nos tecidos fotossintetizantes, os de classe II estão associados com o tecido vascular e os de classe III são mais expressos em sementes e órgãos reprodutivos (MHAMDI et al., 2010).

A catalase é a enzima que se encarrega de fazer a conversão de altas concentrações de  $H_2O_2$  em água e oxigênio. Quando o peróxido de hidrogênio está presente em baixas concentrações (condições fisiológicas normais), entretanto, a glutationa peroxidase é que se encarrega de transformá-la em água (HALLIWELL; GUTTERIDGE, 1989).

Dependendo da concentração do  $H_2O_2$ , a CAT pode atuar com ações peroxidadivas e catalíticas (RESENDE et al., 2012). A catalase é responsável pela inativação do  $H_2O_2$  formado durante a conversão do glicolato a glioxalato que ocorre durante a fotorrespiração, onde o peróxido é convertido pela enzima a  $H_2O$  e  $O_2$  (RESENDE et al., 2012).

Em baixas concentrações de  $H_2O_2$  (< 1  $\mu$ M), a CAT atua com ações peroxidativas e o componente I pode ser reduzido por doadores de hidrogênio, como o etanol e ácido ascórbico. Em elevadas concentrações, atua rapidamente de forma catalítica, formando  $H_2O$  e  $O_2$  (SCANDALIOS, 2005; RESENDE et al., 2012).

#### 2.4.3. Ascorbato Peroxidase

O ascorbato é o antioxidante mais importante nas plantas, com um papel fundamental na remoção do  $H_2O_2$  (FOYER, 1993).

Ascorbato peroxidase são enzimas que catalisam a conversão do peroxido de hidrogênio a água, através da oxidação do ascorbato (Tabela 1) (TEIXEIRA; MENEZES-BENAVENTE, 2004).

Várias situações de estresse induzem a expressão de genes que codificam o ascorbato peroxidase, como estresse hídrico e salino, metais, frio, ataque de patógenos, ou através de tratamentos com ácido abscisico ou com peróxido de hidrogênio (NOCTOR; FOYER, 1998; MITTLER et al., 2004; RESENDE et al., 2012).

#### 2.5. Sistema antioxidante não enzimático

#### 2.5.1. Compostos Fenólicos

As plantas são fontes de diversos compostos químicos, principalmente do metabolismo secundário, comumente chamados de fitoquímicos. Entre estas substâncias estão os compostos fenólicos, que desempenham papel importante na natureza, atuando na regulação da maturação e do amadurecimento de frutos e sua proteção contra agressão de agentes como bactérias e insetos. São importantes também para o desenvolvimento de características sensoriais como a cor e o sabor dos alimentos, como a coloração vermelha nos frutos de tomate-cereja (OLDONI, 2010).

Os compostos fenólicos são importantes constituintes de muitas frutas e hortaliças, sendo que a quantificação dessas substâncias revela informações relacionadas à atividade antioxidante, qualidade do fruto e dos potenciais benefícios à saúde (TALCOTT et al., 2003).

Os compostos fenólicos podem ser divididos em flavonoides (antocianinas, flavonóis e isoflavonas) e não flavonoides (ácidos fenólicos). Esses compostos são os principais responsáveis pela capacidade antioxidante, agindo como quelantes do oxigênio singlete e triplete, sequestrantes de radicais livres e inibidores enzimáticos, além de atuarem como sinergistas de outros compostos fenólicos (ROSA et al., 2010).

Segundo Saltveit (2000), a exposição do órgão vegetal ao choque térmico, induz a síntese de um conjunto único de proteínas chamadas de 'proteínas de choque térmico', e que a síntese dessas proteínas é acompanhada por uma inibição geral da síntese de proteínas normais da rota de fenilpropanóides e, conseqüente inibição do acúmulo de compostos fenólicos.

#### 2.5.2. Flavonoides

Flavonoides são compostos fenólicos naturais que ocorrem em uma grande variedade de espécies vegetais e exibem inúmeros efeitos benéficos para a saúde humana. Estas substâncias apresentam grande poder antioxidante (BENDINI et al., 2006).

Os flavonoides constituem a maior classe de compostos fenólicos nos vegetais e o grupo mais comum dos flavonoides pigmentados consiste na cor observada nos vegetais (TAIZ; ZEIGER, 2004).

Os flavonoides são mais comumentes encontrados em folhas, órgãos florais e pólen, moléculas que se acumulam nos vacúolos e podem estar presentes na superfície de partes aéreas dos vegetais, onde exercem funções importantes como pigmentação das flores, frutos e sementes, entre outras (GILL; TUTEJA, 2010).

Além disso, os flavonoides e outros compostos fenólicos absorvem radiação UV, onde as moléculas estão envolvidas na proteção do vegetal contra estresses (CLÉ et al., 2008).

#### 2.5.4. Ácido Ascórbico

O ácido ascórbico é considerado a molécula celular com maior poder antioxidante, graças as suas propriedades químicas que permite que esta molécula doe elétrons a um grande número de reações enzimáticas e não enzimáticas. Dentre suas funções, podemos citar a redução dos íons superóxido e dos radicais hidroxila produzidos na membrana plasmática e em outros compartimentos celulares, a regeneração do alfatocoferol, a atuação como cofator de enzimas, a preservação da atividade de enzimas que

possuem grupamentos contendo íons metálicos, entre outras funções (GILL; TUTEJA, 2010).

O ácido ascórbico se encontra sob duas formas: reduzida (ácido L-ascórbico) ou oxidada (ácido deidroascorbato ou monodeidroascorbato). A conversão do ácido ascórbico em ácido deidroascórbico ocorre normalmente no interior do órgão e é reversível pela ação de redutases, conduzindo a uma reciclagem da forma reduzida, de forma que a manutenção dos níveis de ácido ascórbico em órgãos vegetais é rigidamente controlada por níveis de síntese, degradação, reciclagem e transporte dentro da célula (STEVENS et al., 2008).

Devido ao papel antioxidante do ácido ascórbico, a via de reciclagem é especialmente importante durante a resposta do órgão a estresses oxidativos, quando o ácido ascórbico reduzido é oxidado para sua forma instável de deidroascorbato que é facilmente degradado. De acordo com Smirnoff e Wheeler (2000), a forma reduzida do ácido ascórbico pode ser esgotada se as formas oxidadas não forem recuperadas por enzimas redutases (monodeidroascorbato e deidroascorbato redutase), expressas geneticamente em resposta a estresses oxidativos.

#### 2.6. Sólidos Solúveis Totais

A porcentagem de sólidos solúveis, que é representada pelo grau Brix (ºBrix) inclui os açúcares e os ácidos e tem influência sobre o rendimento industrial, enquanto que a acidez total titulável, que é representada pelo teor de ácido cítrico, influencia principalmente o sabor dos frutos (GIORDANO; SILVA; BARBOSA, 2000). A presença de concentrações adequadas de açúcares solúveis e ácidos orgânicos determina o desenvolvimento do sabor do fruto e afeta diretamente a qualidade do produto (MOURA et al., 2005). O sabor é o aspecto mais importante para o consumidor no momento de decidir qual tipo de tomate comprar, preferindo uma proporção balanceada de açúcar/ácido. Quando altos teores de açúcares são combinados com baixos teores de ácidos, o sabor, apesar de muito doce, é considerado sem gosto e quando possui altos teores de ácidos e baixos teores de açúcares, o sabor é azedo (MORGAN, 2015).

O grande diferencial do tomate cereja é ser muito saboroso e adocicado, a ponto de ser consumido *in natura* ou salada. Enquanto o tomate tradicional possui <sup>o</sup>Brix entre 4 e 6, as variedades de tomate-cereja possuem doçura suficiente para chegar entre 9 e

12 ºBrix, que indica a concentração de sólidos solúveis totais representados pelo teor de açúcares (ABH, 2012).

Durante a maturação de frutos, uma das principais modificações em suas características é o acúmulo de açúcares, o qual ocorre simultaneamente com a acidez. O teor de açúcares normalmente aumenta com o amadurecimento de frutas por meio de processos sintéticos ou pela degradação de polissacarídeos. A determinação de sólidos solúveis totais é uma técnica simples, que são expressos em °Brix, sendo utilizados como uma medida indireta do teor de açúcares, uma vez que há aumento do valor à medida que esses teores vão se acumulando na fruta (CHITARRA; CHITARRA, 2005).

#### 2.7. Choque Térmico

A aplicação de tratamento térmico para controle da degradação em frutos se mostra promissor, mas com menos resultados positivos do que a desinfestação de insetos, pois a temperatura elevada pode aumentar a sensibilidade à recontaminação por patógenos. De acordo com relatos, tratamento de imersão em água quente reduziu as podridões em tomates (BARKAI-GOLAN et al., 1991).

O uso de técnicas empregando variações de temperatura é uma metodologia alternativa para o controle de senescência e distúrbios fisiológicos (SAUTER; RZEWUSKI, 2008; CHITARRA; CHITARRA, 2005).

O choque térmico com temperatura não letal, ao redor de 45 °C, podem reduzir processos de degradação e aumentar o período de armazenamento de frutos (VICENTE et al., 2002).

Os efeitos benéficos do uso de calor em frutos são: redução da carga microbiológica, indução da biossíntese de fitoalexinas e até retardo da perda da firmeza (LUNARDI; SEIBERT; PEZZI, 2002). Porém, há relatos de perda de peso, alteração de cor da casca e polpa, aumento da síntese de etileno e, consequentemente, aumento da atividade respiratória (SAUTER; RZEWUSKI, 2008; KLUGE et al., 2006).

Os principais mecanismos de defesa envolvidos no estabelecimento de maior resistência de frutos tratados termicamente incluem o estímulo ao aumento da expressão de enzimas antioxidativas (YAHIA et al., 2007).

O tratamento de calor em curto prazo pode prolongar a vida de útil durante o armazenamento, bem como o tratamento em longo prazo com ar aquecido, mas altera

alguns perfis de compostos voláteis aromatizantes (McDONALD; McCOLLUM; BALDWIN, 1999).

#### 3. MATERIAL E MÉTODOS

Foram utilizados frutos de tomates cereja (*Solanum lycopersicum* var. cerasiforme), produzidos em sistema orgânico e adquiridos de produtor do município de Marechal Cândido Rondon, localizado na Região Oeste do Paraná (altitude de 420 metros, latitude de 24°33'01.9"S e meridiano de 54°05'22.3"W), e conduzidos ao Laboratório de Tecnologia de Alimentos, da Universidade Estadual do Oeste do Paraná – UNIOESTE, Campus Marechal Candido Rondon.

Foram selecionados frutos sadios, sem defeitos e de tamanhos homogêneos, em estádio verde-maduro (cor da casca predominantemente verde), com posterior higienização por lavagem com água corrente e sanitização por imersão em água sanitária comercial por um minuto.

#### 3.1. Tratamento térmico, armazenamento e amostragem

Os frutos foram submetidos aos tratamentos de choque térmico por imersão em água aquecida à temperatura de 45 ± 2 °C. Os tempos de imersão testados foram 5, 10, 15, 20 e 25 minutos. Tomates-cereja não tratados (controle) foram armazenados sob as mesmas condições. Após os tratamentos, os frutos foram divididos em dois grupos. Um grupo foi submetido ao ensaio de armazenamento em câmara climatizada à temperatura de 20 ± 2 °C com 60% de UR, por 12 dias. A cada intervalo de três dias os frutos foram analisados quanto às variáveis ácido ascórbico, compostos fenólicos totais, flavonoides, perda de massa, cor da casca e firmeza. Para este ensaio, parcelas de 10 frutos (parcela experimental) foram acondicionadas após os tratamentos, em bandejas de poliestireno expandido com tampa e armazenadas.

O segundo grupo de tomates foi utilizado para as análises de atividade das enzimas SOD, CAT e APX, bem como para a atividade respiratória e produção de etileno (C<sub>2</sub>H<sub>4</sub>), onde os mesmos foram submetidos aos mesmos tratamentos de choque térmico. Neste caso os frutos foram submetidos às análises depois de 2, 6, 24 e 48 horas dos tratamentos com choque térmico, e as condições de armazenamento foram às mesmas

que o primeiro grupo, ou seja, em câmara climatizada à temperatura de 20  $\pm$  2 °C com 60% de UR.

#### 3.2. Análises experimentais

#### 3.2.1. Perda de massa, firmeza e cor da casca.

#### 3.2.1.1. Variação da massa

A variação de massa foi determinada em balança semi-analítica, nos intervalos de observações durante a armazenagem, a partir da diferença entre a massa inicial e de cada intervalo de armazenamento sendo expresso em porcentagem (%).

#### 3.2.1.2. Firmeza

A firmeza da polpa foi determinada com texturômetro digital de bancada (Brookfield, CE3), com sonda de 8 mm (diâmetro), tomando-se uma leitura na região de maior diâmetro do fruto. Os resultados foram expressos em Newton (N). (MORETTI, 2006).

#### 3.2.1.3. Cor da casca

A coloração da epiderme dos frutos foi medida visualmente de acordo com a escala de cor adaptada por Moura et al.(2005) como se segue:

- estádio 1 = menos de 10% da superfície com cor vermelha;
- estádio 2 = 11% a 40% de cor vermelha;
- estádio 3 = 41% a 60% de cor vermelha;
- estádio 4 = 61% a 80% de cor vermelha;
- estádio 5 = mais de 81% de cor vermelha, mas não totalmente vermelhos;

• estádio 6 = 100% de cor vermelha.

#### 3.2.2. Determinação de sólidos solúveis totais

Para a determinação dos sólidos solúveis utilizou-se a metodologia do Instituto Adolfo Lutz (2005), onde, duas gotas do suco do fruto foram colocadas em refratômetro digital (Reichert, r<sup>2</sup>mini), com leituras em duplicata, sendo os resultados expressos em <sup>o</sup>Brix.

#### 3.2.3. Compostos fenólicos e flavonoides totais, e ácido ascórbico.

#### 3.2.3.1. Preparo do extrato

O extrato foi preparado na proporção 1:10 (amostra: solvente; m:v), onde 1 g de amostra fresca, macerada em  $N_2$  até ficar com aspecto de pó, foi extraído em 10 mL de solução de etanol 80% (etanol: água; 80:20; v/v), seguidos de homogeneização em agitador magnético por 2 minutos, conforme descrito por Lima et al. (2012), com adaptações. Em seguida, o extrato foi filtrado em papel filtro qualitativo, acondicionado em frasco âmbar com tampa e mantido sob refrigeração até o momento das análises.

#### 3.2.3.2. Compostos fenólicos totais

A determinação do teor de fenólicos totais foi realizada pelo método colorimétrico do reagente de Folin-Ciocalteau descrito por Singleton, (1999). Alíquota de 0,5 mL do extrato foi adicionada a 2,5 mL da solução de Folin-Ciocalteau, mantendo em repouso por 5 minutos. Em seguida, foram adicionados 2,0 mL de uma solução de carbonato de sódio a 4% (m/v) e deixado em repouso por mais 2 horas no escuro. A absorbância foi medida em espectrofotômetro (Shimatzu–UV 1800) a 740 nm. Os resultados foram expressos em mg g-1 da amostra fresca em equivalente ácido gálico (EAG), e calculados por meio de

equação linear ajustada das leituras de soluções diluídas do padrão ácido gálico (Figura 1).

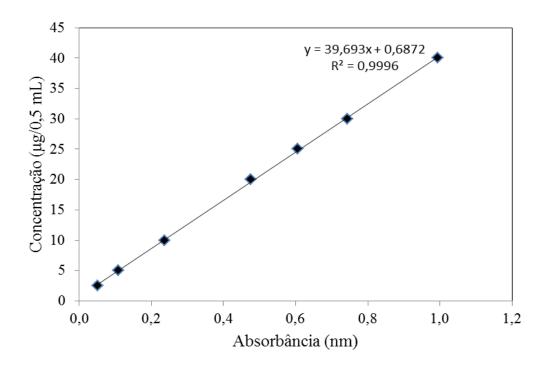


Figura 1: Curva padrão para compostos fenólicos totais.

#### 3.2.3.3. Flavonoides totais

Foi determinado pela metodologia descrita por Chang et al. (2002) com modificações, onde 0,5 mL do extrato foi adicionado em 4,3 mL de etanol 80%, 0,1 mL de Cloreto de alumínio (AlCl<sub>3</sub>), e 0,1 mL de acetato de potássio. Uma série controle foi realizada paralelamente adicionando etanol 80% em substituição ao AlCl<sub>3</sub>. Após 40 minutos no escuro e à temperatura ambiente, a absorbância foi medida a 415 nm. Os resultados foram expressos em mg g<sup>-1</sup> do peso fresco em equivalente quercetina (EQ), e calculados por meio de equação de ajuste da curva de calibração obtida para o padrão quercetina. (Figura 2).

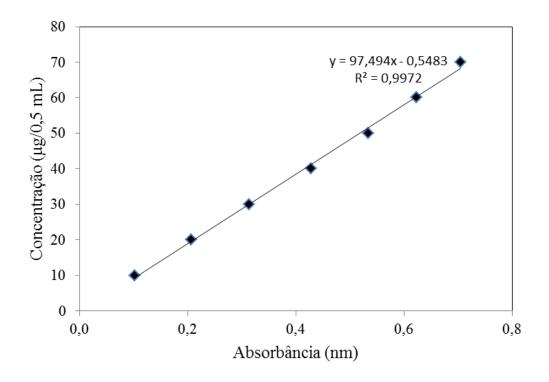


Figura 2. Curva de calibração para quercetina com concentrações de 10 a 70 μg mL<sup>-1</sup>.

#### 3.2.3.4. Ácido ascórbico

O teor de vitamina C foi determinado por titulação com 2,6-dicloro-fenol-indofenol (DCFI), de acordo com Benassi e Antunes (1988). Em um béquer foi adicionado 10 mL do padrão ácido ascórbico (50 mg 100 mL<sup>-1</sup>) e 50 mL de acido oxálico (1%; m/v) e homogeneizado, para calibração. Para as análises, foram homogeneizados 2 g da amostra de tomate-cereja maceradas em N<sub>2</sub> e filtradas em papel filtro qualitativo, em 50 mL de ácido oxálico a 1%. Após a homogeneização, foi realizada titulação com solução padrão de DCFI. Os resultados foram expressos em mg 100 g<sup>-1</sup> da amostra fresca.

## 3.2.4. Determinação da atividade superóxido dismutase (SOD), catalase (CAT) e ascorbato peroxidase (APX).

#### 3.2.4.1. Extração das Proteínas

As amostras foram maceradas em N<sub>2</sub> liquido ate ficarem com aspecto de pó. As amostras foram homogeneizadas em tampão fosfato de potássio (Na<sub>2</sub>PO<sub>3</sub>) 50 mM, pH 6,8 (proporção de 0,5 g para 4,0 mL de tampão), contendo 200 mg de polivinilpolipirrolidona (PVPP), conforme Azevedo et al. (1998). O homogeneizado foi centrifugado a 10000 x g a 4 °C, por 10 minutos, utilizando centrifuga refrigerada. O sobrenadante foi divido em alíquotas e estocado em freezer para posterior quantificação de proteínas e análises enzimáticas.

#### 3.2.4.2. Quantificação das proteínas

A concentração das proteínas totais foi determinada segundo o método de Bradford (1976), utilizando BSA (Bovino Serum Albumin) como padrão. Foi utilizado espectrofotômetro a 595 nm, e os resultados expressos em mg mL<sup>-1</sup> por meio de ajuste da curva de calibração para proteínas (Figura 3).

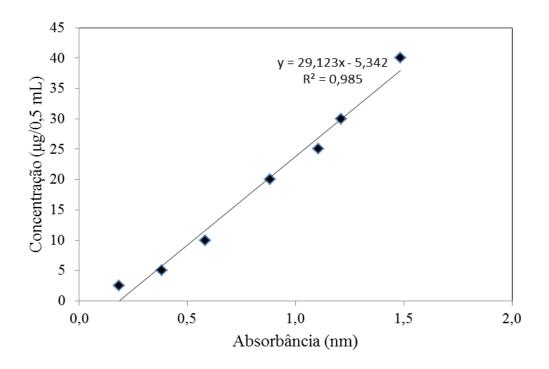


Figura 3. Curva de calibração para determinação de proteínas.

#### 3.2.4.3. Superóxido Dismutase (SOD)

A determinação da atividade da SOD considera a capacidade da enzima em inibir a fotorredução do NBT (Azul de nitrotetrazólio cloreto). A atividade foi determinada pela adição de 50 mL de extrato bruto a uma solução contendo 13 mM de metionina, 75 mM de NBT, 100 nM de EDTA e 2 mM de riboflavina em tampão fosfato de potássio 50 mM, pH 7,8.

A reação iniciou pela iluminação dos tubos, em câmara composta por lâmpada fluorescente (15 W), a 25 °C. Após 5 minutos de incubação, o final da foi determinado pela interrupção da luz (GIANNOPOLITIS; RIES, 1977). O composto azul formado (formazana) pela fotorredução do NBT foi determinado pela leitura em espectrofotômetro a 560 nm e os resultados expressos em mg mL<sup>-1</sup> de proteína.

Os tubos considerados como branco para a análise receberam os mesmos reagentes, porém foram mantidos cobertos com papel alumínio sob ausência de luz. Uma unidade de SOD é definida como a atividade da enzima necessária para a inibição de 50% da fotorredução do NBT. Para o cálculo da atividade específica da enzima,

considerou-se a porcentagem de inibição obtida, o volume da amostra e a concentração de proteína na amostra. Os valores da SOD foram expressos em U SOD g<sup>-1</sup> de proteína.

#### 3.2.4.4. Catalase (CAT)

A atividade da enzima catalase foi determinada em espectrofotômetro a 240 nm pelo monitoramento da variação da absorção do peróxido de hidrogênio, conforme Peixoto et al. (1999). Para o teste, 50  $\mu$ L de extrato bruto serão adicionados a 950  $\mu$ L de um tampão fosfato de potássio 50 mM, pH 7,0 suplementado com peróxido de hidrogênio ( $H_2O_2$ ) a uma concentração final de 12,5 mM. A variação da absorção foi determinada através da decomposição do  $H_2O_2$  por 60 segundos, através das alterações de absorbância, tendo os resultados expressos em  $\mu$ mol. min<sup>-1</sup> mg<sup>-1</sup> de proteína, sendo a atividade da enzima calculada utilizando-se um coeficiente de extinção molar e = 39,4 mM cm<sup>-1</sup>. A atividade específica ( $\mu$ Kat  $\mu$ g Prot<sup>-1</sup>) da catalase, levou em consideração a concentração de proteína solúvel no teste.

#### 3.2.4.5. Ascorbato Peroxidase (APX)

A atividade da APX foi determinada conforme descrito por Gomes-Junior et al. (2007), com modificações. O meio da reação foi composto por 690 μL de tampão fosfato de potássio 80 mM, pH 7,5, 100 μL de ascorbato 5 mM, 100 μL de EDTA 0,1 mM, 100 μL de H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> (peróxido de hidrogênio) 0,1 mM e 10 μL do extrato enzimático. A atividade foi determinada pelo monitoramento da taxa de oxidação do ascorbato a 290 nm, a 30 °C, durante 60 segundos, em espectrofotômetro. Os valores foram expressos em nmol min<sup>-1</sup> mg<sup>-1</sup> de proteína.

#### 3.2.5. Respiração e produção de etileno (C<sub>2</sub>H<sub>4</sub>).

Para as determinações de respiração e produção de etileno, os tomates cereja, foram colocados em recipientes herméticos de plástico com capacidade de 500 mL, previamente expostos a condições de umidade e temperatura ambiente. Após 1 hora,

amostras de 1 mL foram coletadas dos recipientes, com o auxílio de uma seringa *gastight* (Hamilton, EUA) e injetadas em cromatógrafo gasosos (Finnigan 9001) calibrado para as temperaturas da coluna, injetor, detector e metanador de 80, 150, 250 e 350 °C, respectivamente. O nitrogênio foi utilizado como gás de arraste. A respiração e a produção de etileno foram determinadas pela diferença entre a concentração gasosa inicial (quando os frascos foram fechados) e final (após 1 hora), sendo expressos em mL de CO₂ kg⁻¹ h⁻¹ e μL de C₂H₄ kg⁻¹ h⁻¹, respectivamente.

#### 3.3. Análise estatística

O experimento foi conduzido segundo o delineamento estatístico inteiramente casualizado. Para os ensaios foram aplicados quatro níveis de cada fator, mais o controle, com cinco períodos de armazenamento e quatro repetições. Foi aplicada a análise de variância e aos parâmetros, cujo teste F foi significativo, foram aplicadas a comparação de médias pelo teste Tukey. O nível de significância em todas as análises foi de p < 0,05, utilizando o programa para análise estatística SISVAR (FERREIRA, 2011).

#### 4. RESULTADOS E DISCUSSÃO

#### 4.1. Cor e firmeza dos tomates-cereja

As variáveis cor e firmeza são dependentes da taxa respiratória, mas invariavelmente a firmeza é dependente da integridade da parede celular, e uma redução nos níveis desses parâmetros é esperada quando o fruto se encontra em amadurecimento, ou quando é exposto a severas condições de estresse oxidativo. Após um dia da aplicação dos tratamentos térmicos os frutos ainda mostravam índices de cor entre 1,5 e 2,0 (Tabela 2), ou seja, prevalência de frutos com predominância de cor verde (20% a 40% de cor vermelha). Os tratamentos com exposição ao calor por 10 e 20 minutos tiveram frutos com índices de cor inferiores ao controle (2,0). Após seis dias da aplicação dos tratamentos, o aumento do tempo de exposição ao calor causou um aumento no desverdecimento dos frutos, o aumento progressivo do índice de cor (4,8 a 6,0) foi gradual, acompanhado pelo aumento do tempo de exposição ao calor.

Acima de 15 min de exposição ao calor e no 6º dia depois dos tratamentos os tomates mostraram índices de cor (5,8, 5,8 e 6,0, respectivamente aos 15, 20 e 25 min) superior ao índice de cor do controle (5,3) (Tabela 2). Esses resultados sugerem que acima de 15 min de exposição ao calor de 45 °C os frutos são levados a um estresse oxidativo que conduz a um aumento na expressão de genes enzimáticos de degradação da clorofila e/ou de síntese de pigmentos carotenoides (CHITARRA; CHITARRA, 2005), que é uma consequência fisiológica do climatério respiratório do amadurecimento, que se mostrou adiantado para os tomates desses tratamentos em comparação aos frutos tratados com 5 e 10 min e o controle.

Por outro lado, os frutos tratados com exposição ao calor por 5 min mostraram índice de cor no sexto dia de armazenamento (4,8 – predominância de cor vermelha próxima de 80%) menor do que o controle (5,3 – acima de 80% cor vermelha), o que pode significar um atraso no amadurecimento. Os máximos índices de cor (6,0) observados nos tomates no 12º dia de armazenamento sugerem que eles se encontram em fase senescente, mas sem indícios de degradação fitopatológica e em condições de consumo.

**Tabela 2**. Índice de cor e firmeza dos tomates-cereja submetidos a diferentes tempos de choque térmico (45 °C). Marechal Candido Rondon-PR, 2015.

Tempo de choque	Armazenamento (dias)						
térmico (min)	1º	3º	6º	9º	12º		
	Índice de Cor*						
Controle	2,0 (±0,82)	3,5 (±0,58)	5,3 (±0,50)	6,0 (±0,00)	6,0 (±0,00)		
5	2,0 (±0,82)	3,5 (±0,58)	4,8 (±0,50)	6,0 (±0,00)	6,0 (±0,00)		
10	1,8 (±0,96)	3,8 (±0,50)	5,5 (±0,58)	6,0 (±0,00)	6,0 (±0,00)		
15	2,0 (±0,00)	3,5 (±0,58)	5,8 (±0,50)	6,0 (±0,00)	6,0 (±0,00)		
20	1,5 (±0,58)	3,5 (±0,58)	5,8 (±0,50)	6,0 (±0,00)	6,0 (±0,00)		
25	2,0 (±0,82)	3,3 (±0,50)	6,0 (±0,00)	6,0 (±0,00)	6,0 (±0,00)		
CV (%)			6,58				
	Firmeza (Newton – N) <sup>ns</sup>						
Controle	8,20 (±0,64)	8,75 (±0,24)	8,00 (±0,64)	9,25 (±0,65)	9,65 (±0,21)		
5	8,60 (±0,26)	9,00 (±0,26)	9,20 (±0,83)	10.75 (±0,62)	10,25 (±0,62)		
10	8,65 (±0,62)	9,85 (±0,24)	9,50 (±0,62)	9.00 (±0,64)	11,05 (±0,48)		
15	8,75 (±0,76)	10,40 (±0,84	10,35 (±0,79)	7,70 (±0,55)	10,50 ±(0,52)		
20	9,70 (±0,61)	8,45 (±0,65)	10,15 (±0,79)	9,70 (±0,93)	9,65 (±0,95)		
25	9,40 (±0,67)	8,55 (±0,42)	9,10 (±0,29)	10,20 (±1,55)	11,60 (±0,82)		
CV (%)			10,50				

<sup>\*</sup> Coloração da epiderme dos frutos foi medida visualmente de acordo conforme a escala de cor adaptada por Moura et al.(2005) e não se aplica estatística.

Com relação à firmeza dos tomates-cereja avaliados (Tabela 2), os valores variaram entre  $8,00 \pm 0,85$  N no período de 6 dias e  $11,60 \pm 1,13$  N no período de 12 dias de armazenamento, sendo que não houve diferença significativa entre os tratamentos, ou seja, houve retenção da firmeza dos frutos mesmo após 12 dias de armazenamento. Esses resultados mostraram que os tratamentos não causaram efeito, pois o controle também mostrou retenção da firmeza até o final do armazenamento.

Segundo McDonald, McCollum e Baldwin (1999), o tratamento térmico não interfere na firmeza do fruto, ou seja, os frutos tratados a 45 °C podem manter constante a textura. Klein e Lurie (1990), afirmaram que o maior beneficio do tratamento térmico é a retenção da firmeza da polpa durante o período de armazenamento. Por outro lado, Chitarra e Chitarra, (2005) e Resende et al., (2012) relataram que em tomate, a perda progressiva da firmeza ocorre com o amadurecimento e é resultante da redução na

<sup>&</sup>lt;sup>ns</sup> Não significativo.

espessura da parede celular e adesão entre as células adjacentes, devido à solubilização da protopectina na parede celular para formar pectina solúvel e outros produtos, mas isso não foi observado para os tomates-cereja avaliados, uma vez que os frutos mostraram cor 100% vermelha e declínio da taxa respiratória (Figura 5b) ao final do armazenamento, característico do fruto em pós-climatério e senescente.

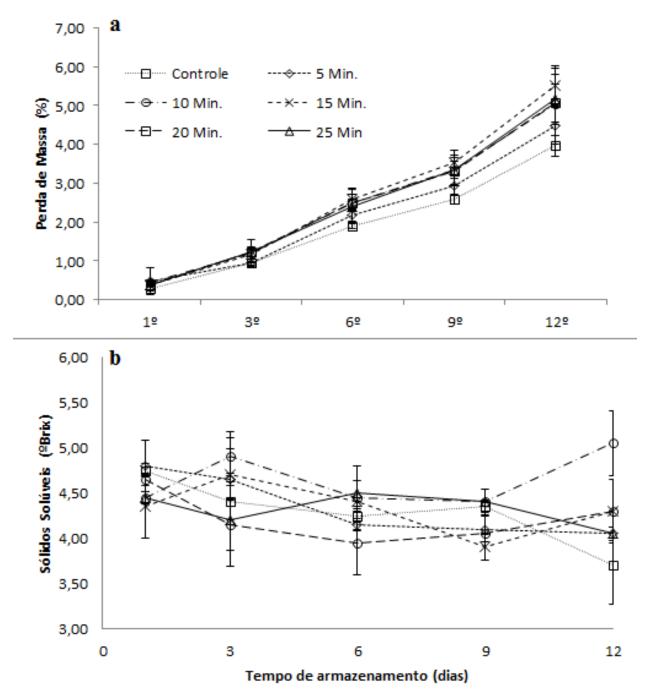
#### 4.2. Perda de massa fresca e teor de sólidos solúveis totais

Depois de serem tratados com choque térmico, os frutos exibiram aumento gradual na perda de massa fresca (Figura 4a) durante todo o período de armazenamento. Entre o primeiro e terceiro dias após a aplicação dos tratamentos térmicos, não foram verificadas diferenças significativas entre os tratamentos e o controle. Entretanto, o tratamento com 5 minutos de exposição ao calor foi o que obteve a menor perda de massa ao final do período (12 dias de armazenamento) entre os tratamentos, com 4,49% de perda, ainda assim, obteve uma perda de massa maior que os frutos do controle, que apresentaram perda de 3,97%, cerca de 0,52% a mais que o controle.

De fato, todos os tratamentos exibiram frutos com aumento na perda de massa, quando comparado ao controle. Vicente et al. (2002) encontrou em morangos tratados com choques térmicos resultado similar de perda de massa fresca.

O teor de sólidos solúveis totais (Figura 4b) tem sido uma das variáveis mais utilizadas para avaliar o efeito de tratamentos pós-colheita em diversos tipos de frutos, uma vez que pode sofrer variação devido ao metabolismo respiratório quando o órgão é submetido a algum tipo de estresse fisiológico natural ou do ambiente.

A aplicação dos tratamentos térmicos não causou influência significativa no teor de açúcares totais dos frutos até o sexto dia de armazenamento, bem como não houve diferenças significativas entre o controle e frutos tratados até este período. McDonald, McCollum e Baldwin (1999) avaliaram tomates de mesa após tratamentos com choque térmico, mas com diferentes temperaturas, e não encontraram efeitos significativos sobre o teor de sólidos solúveis ou sabor dos frutos após 11 dias a 20 °C. Entretanto, aos 12 dias de armazenamento os frutos tratados mostraram teores de açúcares totais maiores do que os frutos do controle.



**Figura 4**. Perda de massa fresca **(a)** e sólidos solúveis totais **(b)** dos tomates-cereja submetidos a diferentes tempos de choque térmico (45 °C). Barras verticais indicam o desvio padrão (n = 2 e n=4, respectivamente). Coeficiente de variação de 13,68% e 6,58%, respectivamente.

### 4.3. Compostos fenólicos totais, flavonoides totais e ácido ascórbico.

Os conteúdos de compostos fenólicos totais e flavonoides totais foram mensurados após os frutos terem sido tratados com choques térmicos, e os resultados são mostrados na Tabela 3. Os maiores teores de compostos fenólicos em pós-colheita muitas vezes pode se relacionado a estresses abióticos, que induzem o metabolismo secundário do fruto, com aumento na produção desses compostos. De fato, no primeiro dia de armazenamento, depois de aplicados os choques térmicos, os tratamentos de 5, 15 e 20 min de exposição ao calor tiveram frutos exibindo teores de compostos fenólicos totais (79,95, 82,34 e 80,57 mg EAG g<sup>-1</sup>, respectivamente) superiores ao controle (58,65 mg EAG g<sup>-1</sup>). Similarmente no sexto dia de armazenamento, os tempos de 15 e 20 min influenciaram teores de fenólicos (97,21 e 97,81 mg EAG g<sup>-1</sup>), respectivamente) totais mais elevados do que o controle (74,40 mg EAG g<sup>-1</sup>), e com 12 dias de armazenamento, o efeito de tratamento foi verificado para o tempo 20 min (107,03 mg EAG g<sup>-1</sup>), em contraste com o controle (91,41 mg EAG g<sup>-1</sup>). Esses resultados sugerem aumento nos conteúdos de compostos fenólicos totais devido ao tratamento térmico, e que os tempos de exposição ao calor de 15 e 20 min tiveram maior efeito ao longo do armazenamento.

Sob condições de estresse moderado, choques térmicos por curtos períodos são capazes de estimular a produção de radicais reativos, como peróxidos, que mediam a indução de sinais para transdução de genes relacionados à ativação/síntese de enzimas, como a fenilalanina amônia-liase e chalcone sintase, relacionadas à síntese de compostos fenólicos, como ácidos fenólicos, flavonoides, ligninas e estilbenes (GONZALEZ-AGUILAR et al., 2010). Neste caso, o aumento da concentração de compostos fenólicos nos frutos, tanto pode melhorar o "status" do sistema antioxidante endógeno, para sequestrar radicais livres na célula, como também pode promover benefícios à saúde do consumidor. O aumento da concentração de compostos fenólicos no armazenamento deve-se ao estímulo da rota dos fenilpropanoides. O aumento da concentração de compostos fenólicos pode ser estimulado pelo aumento da síntese de etileno, decorrente de estresse pelo calor, estimulando a síntese de ácido clorogênico e de outros compostos fenólicos, como a isocumarina em cenoura (HYDO et al., 1978).

No conteúdo de flavonoides totais (Tabela 3), o efeito de tratamento foi verificado somente no primeiro e terceiro dia de armazenamento após a aplicação dos choques térmicos, ou seja, frutos expostos ao calor expressaram conteúdos de flavonoides mais

elevados do que o controle nestes períodos. As variações ocorridas no período final de armazenamento (12 dias) ocorreram devido a uma variabilidade amostral, uma vez que os resultados dos frutos tratados não diferenciaram do controle. Dewanto et al. (2002) em estudo similar com tomates de mesa tratados com choque térmico não encontraram mudanças significativas no conteúdo de fenólicos totais e flavonoides totais dos frutos depois de expostos ao calor por 2, 15 e 30 min a 88 °C.

De acordo com a Tabela 3, não houve diferença significativa entre os tratamentos e o controle nos teores de ácido ascórbico. Foi verificado que o choque térmico não causou efeito sobre os conteúdos de ácido ascórbico dos tomates-cereja após armazenamento, bem como não houve diferenças significativas entre os resultados desses tratamentos e o controle.

Devido ao papel antioxidante do ácido ascórbico, a via de reciclagem é especialmente importante durante a resposta do órgão a estresses oxidativos, quando o ácido ascórbico reduzido é oxidado para sua forma instável de deidroascorbato que é facilmente degradado.

De acordo com Smirnoff e Wheeler (2000), a forma reduzida do ácido ascórbico pode ser esgotada se as formas oxidadas não forem recuperadas por enzimas redutases (monodeidroascorbato e deidroascorbato redutase), expressas geneticamente em resposta a estresses oxidativos. Os valores encontrados com os relatados para esses vegetais em estudos anteriores (MARCONI et al, 2007).

**Tabela 3**. Compostos fenólicos totais (mg EAG g<sup>-1</sup>), flavonoides totais (mg EQ g<sup>-1</sup>) e ácido ascórbico (mg 100 g<sup>-1</sup>) dos tomates-cereja submetidos a diferentes tempos de choque térmico (45 °C).

Tempo de	Armazenamento (dias)							
choque térmico (min)	1º	30	6°	90	12º			
	Compostos Fenólicos Totais (mg EAG g¯¹)							
Controle	58,65 (±7,23) <sup>b</sup>	65,52(±6,91) <sup>bc</sup>	74,40 (±13,85) <sup>b</sup>	82,05 (±30,70) <sup>bc</sup>	91,41 (±4,36) <sup>b</sup>			
5	79,95 (±11,79) <sup>a</sup>	71,73 (±18,30) <sup>b</sup>	60,86 (±16,75) <sup>c</sup>	78.28(±10,15) <sup>bc</sup>	69,01 (±8,91) <sup>c</sup>			
10	58,49 (±7,90) <sup>b</sup>	62,37 (±9,07) <sup>c</sup>	87,66(±6,06) <sup>ab</sup>	114,01(±8,90) <sup>a</sup>	104,11(±18,63) <sup>ab</sup>			
15	82,34 (±18,40) <sup>a</sup>	89,97 (±6,90) <sup>a</sup>	97,21 (±5,34) <sup>a</sup>	111,79(±2,53) <sup>a</sup>	94,95 (±8,99) <sup>b</sup>			
20	80,57 (±6,93) <sup>a</sup>	73,46 (±29,81) <sup>b</sup>	97,81 (±21,02) <sup>a</sup>	96,30 (±10,27) <sup>ab</sup>	107,03 (±24,93) <sup>a</sup>			
25	63,41 (±2,46) <sup>b</sup>	71,58 (±2,75) <sup>b</sup>	79,17 (±8,55) <sup>b</sup>	70,10 (±18,80) <sup>c</sup>	73,75 (±13,86) <sup>bc</sup>			
C.V. (%)	17,27							
	Flavonoides totais (mg EQ g <sup>-1</sup> )							
Controle	22,50 (±11,94) <sup>c</sup>	16,82 (±4,04) <sup>a</sup>	77,24 (±5,91) <sup>o</sup>	39,56 (±14,39) <sup>ab</sup>	49,94 (±0,35) <sup>ab</sup>			
5	49,87 (±10,82) <sup>a</sup>	33,28 (±1,39) <sup>D</sup>	68,36 (±4,66) <sup>c</sup>	40,44 (±6,44) <sup>a</sup>	69,01 (±8,91) <sup>c</sup>			
10	30,96 (±8,48) <sup>pc</sup>	22,47 (±4,96) <sup>c</sup>	87,66 (±6,06) <sup>a</sup>	28,49 (±0,92) <sup>c</sup>	61,61 (±10,78) <sup>a</sup>			
15	32,05 (±4,68) <sup>D</sup>	39,84 (±5,02) <sup>ab</sup>	59,27 (±5,34) <sup>a</sup>	35,00 (±3,81) <sup>D</sup>	57,44 (±4,78) <sup>a</sup>			
20	34,50 (±5,79) <sup>b</sup>	43,02 (±9,04) <sup>a</sup>	73,88 (±25,06) <sup>DC</sup>	33,10 (±5,05) <sup>DC</sup>	30,98 (±1,93) <sup>c</sup>			
25	39,08(±13,75) <sup>ab</sup>	30,44 (±2,74) <sup>DC</sup>	79,17 (±8,54) <sup>ab</sup>	38,20 (±4,36) <sup>ab</sup>	56,97 (±7,42) <sup>D</sup>			
C.V. (%)	22,07							
	Acido ascórbico (mg 100 g <sup>-1</sup> ) <sup>115</sup>							
Controle	35,22 (±9,15)	25,15 (±4,04)	44,03 (±5,90)	35,21 (±4,39)	26,42 (±7,94)			
5	35,22 (±10,81)	23,47 (±1,38)	33,53 (±6,74)	33,53 (±6,43)	24,01 (±8,91)			
10	35,22 (±8,48)	25,15 (±4,96)	30,62 (±6,06)	33,53 (±0,91)	25,15 (±8,63)			
15	44,03 (±4,67)	40,01 (±5,01)	50,30 (±5,33)	40,01 (±3,80)	52,84 (±8,99)			
20	35,22 (±5,96)	29,34 (±9,46)	32,01 (±5,06)	30,62 (±5,05)	26,42 (±5,22)			
25	52,84 (±5,40)	37,73 (±2,74)	42,25 (±8,54)	44,01 (±4,36)	52,84 (±7,42)			
C.V. (%)			49,37					

Médias seguidas pela mesmo símbolo, na coluna, não diferem p > 0,05 pelo teste Tukey.

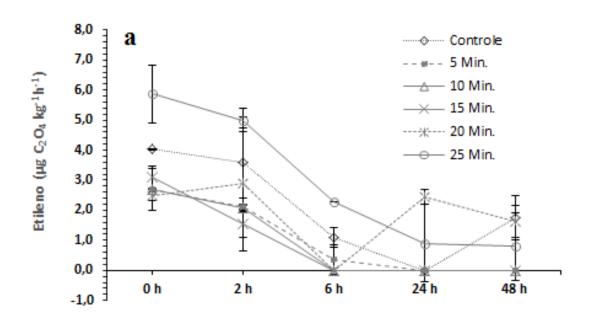
<sup>&</sup>lt;sup>ns</sup> Não significativo,

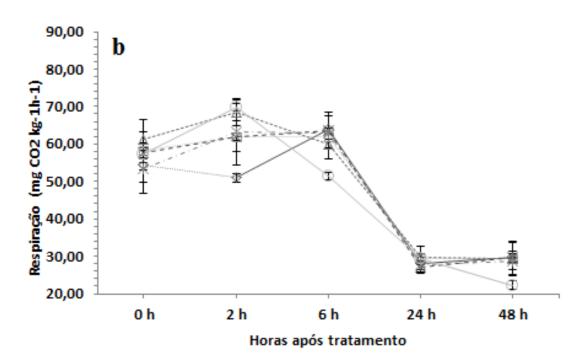
# 4.4. Produção de etileno e respiração.

A produção de etileno (Figura 5a), que impulsiona o aumento da respiração em frutos climatéricos, e a respiração (Figura 5b) dos tomates-cereja foram determinadas durante o seu armazenamento por 48 horas, após terem sido tratados com os choques térmicos. A intensidade respiratória do fruto está intimamente relacionada com a temperatura. A temperatura pode interferir tanto na velocidade de reação dos processos metabólicos; quanto no tempo de armazenamento e nos distúrbios fisiológicos dos frutos. Independente dos tratamentos, os tomates mostraram redução da produção de etileno durante o período avaliado, com exceção dos frutos que foram tratados com choque térmico por 20 minutos e o controle, que mostraram aumentos de etileno ao final do período avaliado (48 horas), iniciando seu processo de maturação mais rápido que os demais tratamentos. Até seis horas de armazenamento, frutos expostos ao choque térmico por 5, 10, 15 e 20 minutos mostraram produção de etileno menor do que o controle, enquanto o choque térmico por 25 minutos influenciou a maior produção de etileno em comparação aos demais tempos e o controle.

Chitarra e Chitarra (2005) relatam que em tomates, a produção de etileno só aumenta após o inicio do processo de amadurecimento, onde o inicio do seu pico respiratório se dá entre 0.8 e 30 mL de  $C_2H_4$  kg<sup>-1</sup> h<sup>-1</sup>, sendo considerado o hormônio do amadurecimento que marcam o período de transição entre as fases de desenvolvimento e senescência do fruto.

Quando o etileno é produzido em baixas concentrações, pode se dizer que não interfere no processo de amadurecimento do fruto (KLUGE et al. 2006).





**Figura 5.** Produção de etileno **(a)** e respiração **(b)** dos tomates-cereja submetidos a choques térmicos (45 °C) em pré-armazenamento. Barras verticais indicam o desvio padrão (n=3).

Os frutos climatéricos possuem uma maior atividade respiratória, e após a colheita, ocorre um aumento nesta taxa, o que leva ao seu amadurecimento imediato. Neste caso, os frutos podem atingir o estádio de maturação comestível na planta ou fora dela. Os frutos climatéricos devem ser colhidos no seu estádio de amadurecimento fisiológico (maturação), pois fora deste ocorrem perdas após a colheita. O fruto colhido em préclimatério é mais resistente às injúrias e ao armazenamento, enquanto o fruto maduro (no climatério), apesar de possuir boa qualidade sensorial, não suporta as condições de transporte e armazenamento (JACOMINO et al., 2003).

No primeiro momento de aplicação dos tratamentos não houve mudança na taxa respiratória dos frutos, uma vez que os níveis de produção de CO<sub>2</sub> dos tomates tratados foram similares ao controle (Figura 4b). Após 2 horas de aplicação dos choques térmicos os níveis de taxa respiratória dos frutos foram superiores ao controle para todos os tempos de exposição ao calor. Níveis elevados de taxas respiratórias são esperados durante o aumento do climatério, ou quando o fruto é exposto a condições de estresse severo, como exposição ao calor (Vicente et al., 2006).

Uma vez que os frutos foram expostos a moderados tratamentos térmicos (45 ℃ por tempos até 25 minutos), não é esperado danos aos tecidos dos frutos, mas taxas de respiração superiores ao controle foram encontradas nos frutos tratados termicamente, o que sugere ter ocorrido estresse fisiológico.

O declínio das taxas respiratórias dos frutos tratados após 6 horas de armazenamento mostrou que esses resultados, independentemente dos tratamentos, estiveram associados com a ocorrência de período pós-climatério seguido de senescência, e sem nenhum efeito de tratamento, pois as taxas respiratórias dos frutos atingiram níveis similares ao do controle. Os frutos tratados com 25 min de exposição ao calor sofreram maior estresse, pois anteciparam o declínio da taxa respiratória a partir de 2 horas, enquanto para os outros tratamentos e o controle, isso ocorreu a partir de 6 horas de armazenamento.

# 4.5. Atividade de Superóxido Dismutase, Catalase e Ascorbato Peroxidase.

Após 2 horas da aplicação dos tratamentos de choque térmico, com exceção do tratamento com 10 min de exposição ao calor, todos os tratamentos mostraram frutos com atividade de superóxido dismutase (SOD) superior ao controle (Tabela 4). Com 6 horas de aplicação dos tratamentos, apenas os tratamentos com 15, 20 e 25 min de exposição ao calor tiveram os frutos com atividade de SOD (436,09; 423,60 e 657, 07 U SOD g<sup>-1</sup> de proteína, respectivamente) superior ao controle (311,04 U SOD g<sup>-1</sup>). Já para ascorbato peroxidase (APX) e catalase (CAT), não houve diferença estatística entre os tratamentos, permanecendo baixa sua atividade enzimática. Sun et al. (2010) verificaram que as atividades de SOD e CAT diminuíram a tolerância de ameixas refrigerados após um prétratamento com calor, (ar quente), diminuíndo a injúria pelo frio durante o armazenamento.

**Tabela 4**. Atividade enzimática de Superóxido dismutase, Catalase e Ascorbato peroxidase em tomates-cereja submetidos a diferentes tempos de choque térmico (45 °C).

Tempo de	Armazenamento (horas)							
choque térmico (min)	2	6	24	48				
	Superóxido Dismutase (U SOD g <sup>-1</sup> de proteína)							
Controle	177.72 (±2,26) <sup>a</sup>	311.04 (±3,18) <sup>o</sup>	104.93 (±8,50) <sup>u</sup>	559.12 (±7,99) <sup>e</sup>				
5	261.08 (±5,37) <sup>0</sup>	305.10 (±1,68) <sup>0</sup>	336.93 (±7,35) <sup>e</sup>	283.23 (±4,60) <sup>u</sup>				
10	178.18 (±8,50) <sup>a</sup>	272.98 (±4,88) <sup>a</sup>	11.8 (±4,10) <sup>D</sup>	4.12 (±8,27) <sup>a</sup>				
15	251.03 (±2,26) <sup>b</sup>	436.09 (±1,34) <sup>c</sup>	36.75 (±1,27) <sup>c</sup>	129.95 (±4,24) <sup>o</sup>				
20	502.11 (±8,20) <sup>c</sup>	423.60 (±1,41) <sup>c</sup>	1.99 (±6,22) <sup>a</sup>	190.48 (±1,50) <sup>c</sup>				
25	586.89 (±1,48) <sup>ca</sup>	657.07 (±6,43) <sup>e</sup>	63.42 (±2,19) <sup>ca</sup>	190.48 (±1,77) <sup>c</sup>				
CV (%)	26,42							
	Catalase (µmol min <sup>-1</sup> mg <sup>-1</sup> de proteína) <sup>ns</sup>							
Controle	8,7 (±6,86)	7,8 (±8,27)	16,7 (±15,27)	7,7 (±2,69)				
5	11,8 (±2,76)	11,8 (±11,10)	6,9 (±4,17)	3,6 (±2,62)				
10	3,9 (±5,52)	3,8 (±0,00)	3,8 (±2,69)	8,7 (±1,34)				
15	9,8 (±11,03)	3,9 (±2,76)	2,8 (±1,34)	15,7 (±16,69)				
20	2,9 (±1,34)	18,0 (±19,80)	2,8 (±1,27)	3,6 (±2,62)				
25	8,7 (±6,86)	5,8 (±0,00)	4,7 (±3,96)	13,9 (±16,97)				
CV (%)	10,90							
	Ascorbato Pero	xidase (nmol min	ˈmg <sup>-</sup> ˈde proteína	ı) <sup>ns</sup>				
Controle	12,2 (±2,25)	19,0 (±8,17)	37,9 (±3,00)	30,1 (±21,05)				
5	26,1 (±18,81)	22,2 (±3,00)	58,2 (±26,66)	42,4 (±23,76)				
10	15,7 (±5,90)	39,7 (±6,16)	37,1 (±34,92)	69,9 (±42,82)				
15	30,7 (±13,35)	35,3 (±14,16)	34,6 (±23,91)	24,2 (±9,87)				
20	39,9 (±24,23)	48,0 (±12,49)	25,3 (±13,91)	33,3 (±14,13)				
25	58,3 (±47,93)	49,4 (±34,62)	38,4 (±28,68)	19,8 (±10,16)				
CV (%)	64,42							

Médias seguidas pela mesma letra, na coluna, não diferem p > 0,05 pelo teste Tukey.

<sup>&</sup>lt;sup>ns</sup>: não significativo,

A atividade das enzimas antioxidantes, quando comparada com o controle, se mostraram superiores para CAT e APX, o que pode ter sido ocasionada por uma resposta do tecido ao estresse oxidativo ocasionado pela imersão em água quente à 45 °C, uma vez que os níveis de catalase e ascorbato peroxidase se mantiveram estáveis, não havendo diferença significativa entre eles. Durante o período de 48 horas de armazenamento, a atividade de superóxido dismutase sofreu elevados índices de estresse oxidativo, o que favorece a remoção do peroxido de hidrogênio pela ação da CAT. Estudos realizados anteriormente demonstraram que frutos submetidos ao tratamento térmico à 42 °C por 15 minutos possibilitou uma atividade da catalase maior. ocorrendo à remoção do H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> em conjunto com a ação da SOD (EDAGI, 2009). Wang e Jiao (2001) observaram que durante o amadurecimento e senescência de amora-preta, tanto as atividades das enzimas SOD, CAT e APX como o conteúdo de antioxidantes não enzimáticos, como ácido ascórbico, decresceram, o que poderia levar a um desequilíbrio oxidativo com danos as membranas biológicas e quebra da integridade dos tecidos do fruto, característico da senescência. Assim, os frutos com melhores sistemas enzimáticos antioxidantes apresentam redução nos danos das membranas que estão relacionadas com maiores períodos de conservação pós-colheita devido a retardos na senescência.

Os resultados obtidos por Wang et al. (2008) mostraram que a SOD possui uma atividade maior com relação às outras enzimas analisadas, apesar de os frutos de tomatecereja terem apresentado atividade enzimática relativamente baixas comparados com outros frutos, como mangas.

### 5. CONCLUSÃO

O tratamento com choque térmico não causou efeitos na cor, firmeza e sólidos solúveis totais. Houve indícios de maior perda de massa nos frutos tratados, quando comparados com o controle.

O teor de compostos fenólicos foi alterado, onde os tempos de 15 e 20 min tiveram maior efeito durante o período de armazenamento. Os frutos expostos ao calor expressaram conteúdos de flavonoides mais elevados do que o controle e não mostraram aumento na concentração de ácido ascórbico em resposta aos tratamentos de choque térmico.

Para as avaliações de respiração e etileno, o choque térmico se mostrou sem efeito após 6 horas de armazenamento. Porém, o choque térmico a temperatura 45 °C por 10 min no período de 24 horas foi mais efetivo na redução da superóxido dismutase, e para atividade de catalase e ascorbato peroxidase não diferiu dos demais tratamentos, não obtendo influencia na atividade antioxidante no tratamento de choque térmico.

Esse estudo mostrou que para os frutos submetidos ao choque térmico, não houve tratamento favorável para melhorar as condições de qualidade do tomate-cereja.

# REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ABH - ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DE HORTICULTURA-ABH. **Tomate Cereja – Sabor e Rentabilidade no mesmo produto.** Disponível em http://www.abhorticultura.com.br/News/. Acessado em 28 de junho de 2012.

ABBOTT, J.A. Quality measurement of fruits and vegetables. **Postharvest Biology and Technology**, v.15, p.207-225, 1999.

ADAMS-PHILLIPS L.; BARRY C.; KANNAN P.; LECLERCQ J.; BOUZAYEN M.; GIOVANNONI J. Evidence that CTR1-mediated ethylene signal transduction in tomato is encoded by a multigene family whose members display distinct regulatory features. **Plant Molecular Biology**, v.54, p.387–404, 2004.

ALMESELMANI, M.; DESHMUKH, P.S.; SAIRAM, R.K.; KUSHWAHA, S.R.; SINGH, T.P. Protective role of antioxidant enzymes under high temperature stress. **Plant Scientia**, v.171, p.382-388, 2006.

ALSCHER R.G.; DONAHUE J.L.; CRAMER C.L. Reactive oxygen species and antioxidants: relationship in green cells. **Plant Physiology**, v.100, p.224-233, 1997.

ALVARENGA, L.R.; FORTES, J.M. Cultivares de fruteiras de clima temperado. **Informe Agropecuário**, v.11, p.3-24, 1985.

ÀLVARES, V.S. Amadurecimento e qualidade da banana "Prata" (Musa AAB subgrupo Prata) submetida a diferentes concentrações de etileno. Tese de doutorado apresentada ao Programa de Pós-graduação em Fitotecnia da Universidade Federal de Viçosa, 2003.

ARIEL, A.; FREDMAN, G.; SUN, Y.P.; KANTARCI, A.; VAN DYKE, T.E.; LUSTER, A.D.; SERHAN, C.N. Apoptotic neutrophils and T cells sequester chemokines during immune response resolution via modulation of CCR5 expression. **National Immunology**, v.7, p.1209–1216, 2006.

AZEVEDO, R.A.; ALAS, R.M.; SMITH, R.J.; LEA, P.J. Response of antioxidante enzymes too transfer from elevated carbon dioxide to air and ozone fumigation, in the leaves and roots of wild-tipe and catalase-deficient mutant of barley. **Physiologia Plantarum**, v.104, p.280-292, 1998.

BARKAI-GOLAN, R.; PHILLIPS, D.J. Postharvest heat treatment of fresh fruits and vegetables for decay control. **Plant Disease**, v.75, p.1085-1089, 1991.

BENASSI, M.T.; ANTUNES, A.J. A comparison of meta-phosphoric and oxalic acids as extractant solutions for the determination of vitamin C in selected vegetables. **Arquivos de Biologia e Tecnologia**, v.34, p.507-513, 1988.

BENDINI, A.; CERRETANI, L.; PIZZOLANTE, L.; TOSCHI, T. G.; GUZZO, F.; CEOLDO, S.; MARCONI, A. M.; ANDREETTA, F.; LEVI, M. Phenol content related to antioxidant and antimicrobial activities of *Passiflora* spp. extracts. **European Food Research and Technology**, v.223, p.102-109, 2006.

BOBBIO, P.A.; BOBBIO, F.O. Introdução à química de alimentos, 3ª ed. São Paulo: Varela, 223p, 2003.

BORGUINI, R.G.; TORRES, E.A.F.S. Alimentos orgânicos: qualidade nutritiva e segurança do alimento. **Segurança Alimentar e Nutricional**, v.13, p.64-75, 2006.

BORGUINI, R.G.; SILVA, M.G. da. Características físico-químicas do tomate (*Lycopersicon esculentum*) produzidos por cultivo orgânico em comparação ao convencional. **Alimentos e Nutrição**, v.16, p.355-361, 2005.

BRADFORD, M.M. A rapid and sensitive method for the quatification microgram quantities of protein utilizing the principle of protein dyes binding. **Anal Biochemistry**, v.72, p. 248-254, 1976.

CARDOSO, S.C.; SOARES, A.C.F.; BRITO, A.S.; CARVALHO, L.A.; PEIXOTO, C.C.; PEREIRA, M.E.C.; GOES E. Qualidade de frutos de tomateiro com e sem enxertia. **Bragantia**, v.65, p.269-274, 2006.

CARVALHO, L.A.; TESSARIOLI NETO, J.; ARRUDA, M.C.; JACOMINO, A.P.; MELO, P.C.T. Caracterização físico-química de híbridos de tomate de crescimento indeterminado em função do espaçamento e número de ramos por planta. **Revista Brasileira de Agrociência**, v.11, p.295-298, 2005.

CHANG, C.; YANG, M.; WEN, H.; CHERN, J. Estimation of total flavonoid content in propolis by two complementary colorimetric methods. **Journal of Food and Drug Analysis**, v.10, p.178–182, 2002.

CHITARRA, M.I.F.; CHITARRA, A.B. **Pós-colheita de frutas e hortaliças: fisiologia e manuseio,** UFLA, 2 ed., 785p., 2005.

CLÉ, C.; HILL, L.M.; NIGGEWEG, R.; MARTIN, C.R.; GUISEZ, Y.; PRINSEN, E. Modulation of chlorogenic acid biosynthesis in *Solanum licopersicum:* consequences for phenolic accumulation and UV-tolerance. **Phytochemistry**, v.69, p.2149-2156, 2008.

COLLINS, J.L.; MCCARTY, I.E. Comparison of microwave energy with boiling water for blanching whole potatoes. **Journal of Food Technology**, v.23, p.63-66, 1969.

DEWANTO, V.; WU, X.; ADOM, K.K.; LIU, R.H. Thermal processing enhances the nutritional value of tomatoes by increasing total antioxidant activity. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v.50, p.3010-3014, 2002.

EDAGI, F.K.; SESTARI, I.; TERRA, F.A.M.; CHIOU, D.G.; KLUGE, R.A.; ANTONIOLLI, L.R. Effect of ripening stage on astringency removal of 'Rama Forte' Persimmon. **Acta Horticulturae**, v.39, p.269-274, 2009.

FERREIRA, D.F. Sisvar: a computer statistical analysis system. **Ciência e Agrotecnologia**, v.35, p.1039-1042, 2011.

FERREIRA, S.M.R.; FREITAS, R.J.S. de; LAZZARI, E.N. Padrão de qualidade e identidade do tomate (*Lycopersicon esculento* Mill) de mesa. **Ciência Rural**, v.34, p.329-335. 2004.

FOYER C.H. Ascorbic acid. In: ALSCHER R.G.; HESS J.L. **Antioxidants in Higher Plants,** Boca Raton, FL: CRC Press, p.31–58, 1993.

GÁLVEZ, A.; ABRIOUEL, H.; BENOMAR, N.; LUCAS, R. Microbial antagonists to food-borne pathogens and biocontrol. **Current Opinion in Biotechnology,** v.21, p.142-148. 2010.

GIANNOPOLITIS, C.N.; RIES, S.K. Superóxido dismutases. I. occurrence in higher plants. **Plant Physiology**, v.59 p.309-314, 1977.

GIORDANO L.B.; SILVA J.B.C.; BARBOSA V. Tomate para processamento industrial. **Embrapa Informação Tecnológica**, v.4, p.36-59, 2000.

GILL, S.S., TUTEJA, N. Reactive oxigen species and antioxidant machinery in abiotic stress tolerance in crop plants. **Plant Physiology and Biochemistry**, v.4, p. 909-93, 2010.

GOMES-JÚNIOR R.A.; MOLDES C.A.; DELITE F.S.; POMPEU G.B.; GRATÃO P.L.; MAZZAFERA P.; LEA P.J.; AZEVEDO R.A. Antioxidant metabolism of coffee cell suspension cultures in response to cadmium. **Chemosphere**, v.65, p.1330-1337, 2006.

GONZALEZ-AGUILAR, G.A.; VILLA-RODRIGUEZ, J.A.; AYALA-ZAVALA, J.F.; YAHIA, E.M. Improvement of the antioxidant status of tropical fruits as a secondary response to some postharvest treatments. **Trends in Food Science & Technology**, v.21, p.475-482, 2010.

HALLIWELL, B.; GUTTERIDGE, J.M.C. Free radicals in Biology and Medicine. Oxford: Clarendon Press, 543 p., 1989.

HYDO, H.; KURODA, H.; YANG, S.F. Introduction of phenylanine ammonialiase and increase in phenolics in lettuce leaves in relation to the development of Russet Spotting caused by ethylene. **Plant Physiology**, v.62, p.31-35, 1978.

IBGE - Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística. 2014. Disponível em: <a href="http://www.ibge.gov.br">http://www.ibge.gov.br</a>. Acesso em: 20 fev. 2015.

INSTITUTO ADOLFO LUTZ. Normas analíticas, métodos químicos e físicos para **análise de alimentos**. São Paulo: IAL, 3 ed, p.53, 2005.

JACOMINO, A.; BRON, I.; E KLUGE, R. Avanços em tecnologia pós-colheita de mamão. **Papaya Brasil**, v.12, p.11, 2003.

JAVANMARDI, J.; KUBOTA, C. Variation of lycopene, antioxidant activity, total soluble solids and weight loss of tomato during postharvest storage. **Postharvest Biology and Technology**, v.41, p.151-155, 2006.

KIRKLAND, B.S.; CLARKE, D.R.; PAUL, D.R. A versatile membrane system for bulk storage and shipping of produce in a modified atmosphere. **Journal of Membrane Science**, v.324, p.119-127, 2008.

KLEIN, J.D.; LURIE, S. Prestorage heat treatment as a means of improving poststorage quality of apples. **Journal of the American Society for Horticultural Science**, v.115, p.265-269, 1990.

KLUGE, R.A.; AZEVEDO, R.A.D.; JOMORI, M.L.L.; EDAGI, F.K.; JACOMINO, A.P.; GAZIOLA, S.A.; AGUILA, J.S.D. Efeitos de tratamentos térmicos aplicados sobre frutas cítricas armazenadas sob Refrigeração. **Ciência Rural,** v.36, p.1388-1396, 2006.

KOBARDS, K.; PRENZLER, P.D.; ANTOLOVICH, M.; MCDONALD, S. Phenolic content and antioxidant activity of olive extracts. **Food Chemistry**, v.73, p.73-84, 2001.

LEHNINGER, A.L.; NELSON, D.L.; COX, M.M. Princípios de bioquímica. 2.ed. São Paulo: Savier, 1995. 839p.

LIMA, A.D.J.B.; CORRÊA, A.D.; SACZK, A.A.; MARTINS, M.P.; CASTILHO, R.O. Determinação de fenólicos, flavonoides e atividade antioxidante da pimenta dedo-demoça (*Capsicum baccatum* var. pedulum) comercializada na cidade de imperatriz – MA. **Revista Brasileira de Fruticultura,** v.33, p.877–887, 2012.

LUNARDI, R.; SEIBERT, E; PEZZI, E. Tratamento por água quente na qualidade de maçãs cv. Fuji inoculadas artificialmente com *Botryosphaeria dothidea* em armazenamento refrigerado. **Ciência Rural**; v.32, p.565-570, 2002.

MAIA, G.A.; SOUSA, P.H.M.S.; LIMA, A.S. **Processamento de sucos de frutas tropicais,** Fortaleza: Editora UFC, p.320, 2007.

MALGARIM, M.B.; CASTILLANO, R.F.; TREPTOW, R.O.; SOUZA, E.L. Estádio de maturação e variação da temperatura na qualidade pós-colheita de ameixas cv. Reubennel. **Revista Brasileira de Agrociências,** v.13, p.61-67, 2007.

McDONALD, R.E.; McCOLLUM, T.G.; BALDWIN, E.A., Temperature of water heat treatments influences tomato fruit quality following low temperature storage. **Postharvest Biology Technology**, v.16, p.147–155, 1999.

MHAMDI, A.; QUEVAL, G.; CHAOUCH, S.; VANDERAUWERA, S.; VAN BREUSEGEM, F.; NOCTOR, G. Catalase function in plants: a focus in *Arabidopsis* mutants as stress-mimics models. **Journal of Experimental Botany,** v.61, p.4197-4220, 2010.

MIGUEL A.C.A.; BEGIATO G.F.; DIAS J.R.P.S.; ALBERTINI S.; SPOTO M.H.F. Efeito de tratamentos químicos na respiração e parâmetros físicos de melão 'Amarelo' minimamente processado. **Horticultura Brasileira**, v.26, p.458-463, 2008.

MITTLER, R. Oxidative stress, antioxidants and stress tolerance. **Trends in Plant Science**, v.7, p.405-410, 2002.

MITTLER, R.; VANDERAUWERA, S.; GOLLERY, M.; VAN BREUSEGEM, F. Reactive oxygen gene network of plants. **Trend in Plant Science**, v.9, p.490-498, 2004.

MORETTI, C.L. Protocolos de avaliação da qualidade química e física de tomate-Comunicado Técnico 32. **Embrapa Hortaliças**, 12p. 2006. MORGAN, L. **Tomato fruit flavor and quality evaluation. Part I**. 2004. Disponível em: http://www.fertcut.com/seach.cfm. Acesso em: 06 de novembro de 2015.

MOURA, M.L.; DEDO, F.L.; MIZOBUTSI, G.P.; GALVAO, H.L.. Fisiologia do amadurecimento na planta do tomate 'Santa Clara' do mutante 'Firme'. Horticultura Brasileira, v. 23, p. 81-85, 2005.

NOCTOR, G.; FOYER, C.H. Ascorbate and glutathione: Keeping Active Oxigen Under Control. **Annual Review of Plant Physiology and Plant Molecular Biology,** v.4, p.249-279. 1998.

OLDONI, T.L.C. **Prospecção e identificação de compostos bioativos de subprodutos agroindustriais.** 2010. 163 f. Tese (Doutorado em ciências) — Universidade de São Paulo — Centro de Energia Nuclear na Agricultura. Piracicaba, 2010.

PAULL, R.E.; CHEN, N.J.; DEPUTY, J. Litchi growth and compositional chages during fruit development. **Journal American Society for Horticultural Science,** v.109, p.817-821, 1984.

PEIXOTO,.H.P.P.; CAMBRAIA, J.; SANT´ANA, R.; MOSQUIM, P.R.; MOREIRA, A.M. Aluminium effects on lipid peroxidation and the activities of enzymes of oxidative metabolism in sorghum. **Revista Brasileira Fisiologia Vegetal,** v.11, p.137-43, 1999.

RAFFO A.; LEONARDI C.; FOGLIANO V.; AMBROSINO P.; SALUCCI M.; GENNARO L.; BUGIANESI R.O.; GIUFRIDA F.; QUAGLIA G. Nutritional value of cherry tomatoes (*Lycopersicon esculentum* cv. Naomi F1) harvested at different ripening stages. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v.50, p.6550-6556, 2002.

RESENDE, E.C.O.; MARTINS, P.F.; AZEVEDO, R.A.; JACOMINO, A.P.; BRON, I.U. Processos oxidativos durante mamão 'Golden' amadurecimento dos frutos. **Brasilian Journal of Plant Physiology**, v.24, p.85-94, 2012.

ROSA, E.A. DA; SILVA, B.C.E; SILVA, F.M. DA; TANAKA, C.M.A.; PERALTA, R.M.; OLIVEIRA, C.M.A. DE; KATO, L.; FERREIRA, H.D.; SILVA, C.C. DA. Flavonoides e

atividade antioxidante em *Palicourea rigida* Kunth, Rubiaceae. **Revista Brasileira de Farmacognosia,** v.20, p.484-488, 2010.

SAUTER, M.; RZEWUSKI, G. Ethylene biosynthesis and signaling in rice. **Plant Science**, v.175, p.32-42, 2008.

SALTVEIT JR., M.E. Wound induced changes in phenolics metabolism and tissue browning are altered by heart shock. **Postharvest Biology and Technology**, v.21, p.61-69, 2000.

SANTOS, A.M.; UENO, B.; REISSER JR, C.; FREIRE, C.J.S.; GONÇALVES, E.D.; COUTINHO, E.F.; HERTER, F.G.; MADAIL, J.C.M.; PEREIRA, J.F.M.; ANTUNES, L.E.C.; WREGE, M.S.; RASEIRA, M.C.B.; RISTOW, N.C.; TREVISAN, R.; CANTILLANO, R.F.F. Sistema de produção do mirtilo. **Embrapa Clima Temperado**, 2007. Disponível em: https://sistemasdeproducao.cnptia.embrapa.br/FontesHTML/Mirtilo/SistemaProducaoMirtil o/conservação.htm Acesso em 23 de janeiro de 2016.

SCANDALIOS, J.G.. Oxidative stress: molecular perception and transduction of signals triggering antioxidant gene defenses. **Brazilian Journal of Medical and Biolical Research**, v.38, p.995-1014, 2005.

SENHOR, R.F.; SOUZA, P.A.; ANDRADE NETO, R.C.; PIBNTO, A.C. Controle através de bloqueadores de etileno. **Revista Verde,** v.4, p.15-22, 2009.

SILVA, J.B.C.; GIORDANO, L.B.; FURUMOTO, O.; BOITEUX, L.S.; FRANÇA, F.H.; BÔAS, G.L.V.; BRANCO, M.C.; MEDEIROS, M.A.; MAROUELLI, W.; SILVA, W.L.C.; LOPES, C.A.; ÁVILA, A.C.; NASCIMENTO, W.M.; PEREIRA, W. Cultivo de tomate para industrialização. **Embrapa Hortaliças,** 2006. Disponível em: http://sistemasdeproducao,cnptia.embrapa.br/FontesHTML/Tomate/Tomateindustrial-2 ed/colheita.htm. Acesso em: 30 de outubro. 2015.

SINGH, A.; ABIDI, A.B. Level of carbohydrate fractions and ascorbic acid during ripening and storage of litchi (*Litchi chinensis* Sonn) cultivars. **Indian Journal Agricultural Chemistry**, v.19, p.197-202, 1986.

SINGLETON, V.L.; ORTHOFER, R.; LAMUELA-RAVENTÓS, R. M. Analysis of total phenols and other oxidation substrates and antioxidants by means of Folin-Ciocalteu reagent. **Oxidants and Antioxidants**, v.299, p.152-178, 1999.

SMIRNOFF, N.; WHEELER, G.L. Ascorbic acid in plants: biosynthesis and function. Critical Reviews in Biochemistry and Molecular Biology, v.35, p.291–314, 2000.

SRIVALLI, B., SHARMA G., KHANNA-CHOPRA, R. Antioxidative defense system in an upland rice cultivar subjected to increasing intensity of water stress followed by recovery. **Plant Physiology**, v.119, p.503-512, 2003,

STEVENS, R.; PAGE, D.; GOUBLE, B.; GARCHERY, C.; ZAMIR, D.; CAUSSE, M. Tomato fruit ascorbic acid content is linked with monodehydroascorbate reductase activity and tolerance to chilling stress. **Plant, Cell and Environment**, v.31, p.1086-1096, 2008.

SUN, J.; CHEN, J.; KUANG, J.; CHEN, W.; LU, W. Expression of sHSP genes as affected by heat shock and cold acclimation in relation to chilling tolerance in plum fruit. **Postharvest Biology and Technology**, v.55, p.91–96, 2010.

SUZUKI, N.; MITTLER, R. Reactive oxygen species and temperature stresses: A delicate balance between signaling and destruction. **Physiologia Plantarum**, v.126, p45–51, 2006.

TAIZ, L.; ZEIGER, E. Fisiologia Vegetal. 3 ed. Porto Alegre: Artmed. p.317-327, 2004.

TALCOTT, S.T.; PERCIVAL, S.S.; PITTET-MOORE, J. CELORIA, C. Phytochemical composition and antioxidant stability of fortified yellow passion fruit (*Pssaflora edulis*). **Journal of Agricultural and Food Chemistry,** v.51, p.935-941, 2003.

TEIXEIRA, F.K.; MENEZES-BENAVENTE, L. Analisys of the molecular evolutionary history of de ascorbate peroxidase gene Family: inferences from the rice genome. **Journal of Molecular Evolution**, v.59 ,p.761-770. 2004.

VICENTE, A.R.; MARTÍNEZ, G.A.; CIVELLO, P.M.; CHAVES, A.R. Quality of heat-treated strawberry fruit during refrigerated storage. **Postharvest Biology and Technology,** v.25, p.59-71, 2002.

VICENTE, A.R.; MARTÍNEZ, G.A.; CIVELLO, P.M.; CHAVES, A.R. Quality of heat treatment on strawberry fruit damage and oxidative metabolism during storage. **Postharvest Biology and Technology**, v.40, p.116-122, 2006.

YAHIA, E.M.; SOTO-ZAMORA, G.; BRECHT, J.K.; GARDEA, A. Postharvest hot air treatment effects on the antioxidant system in stored mature-green tomatoes. **Postharvest Biology Technology**, v.44, p.107-115, 2007.

WANG, S.Y.; JIAO, H. Changes in oxygen-scavenging systems and membrane lipid peroxidation during maturation and ripening in blackberry. **Journal Agriculture and Food Chemistry**, v.49, p.1612-1619, 2001.

WANG, W.X.; VINOCUR, B.; SHOSEYOV, O.; ALTMAN, A. Role of heat shock Proteins and molecular chaperones in the abiotic stress response. **Trends Plant Science**, v.9, p.245–251, 2004.

WANG, B.; WANG, J.; LIANG, H.; YI, J.; LIN, L.; WU, U.; FENG, X.; CAO, J.; JIANG, W. Reduced chilling injury in mango fruit by 2,4-dichlorophenoxyacetic acid and the antioxidant response. **Postharvest Biology and Technology**, v.48, p.172-181, 2008.

WHITAKER, J.R.; CHANG, C. Polyphenol oxidase. In: FENNEMA, O.R. Principles of Enzymology for the **Food Sciences**, v.27, p.543-556, 1994.

ZHANG, P.; WHISTLER, R.L.; BEMILLER, J.N.; HAMAKER, B.R. Banana starch: production, physicochemical properties, and digestibility-a review. **Carbohidrate Polumers,** v.59, p.443-458, 2005.

ZHANG, Z.; NAKANO, K.; MAEZAWA, S. Comparison of the antioxidant enzymes of broccoli after cold or heat shock treatment at different storage temperatures. **Postharvest Biology and Technology**, v.54, p.101-105. 2009.