

UNIVERSIDADE ESTADUAL DO OESTE DO PARANÁ
***Campus* DE MARECHAL CÂNDIDO RONDON**
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO *Stricto sensu* EM AGRONOMIA
NÍVEL MESTRADO

KARINE ZACHOW

**AVALIAÇÃO DO TRATAMENTO HIDROTÉRMICO, COMBINADO AO CÁLCIO E
AO ÁCIDO GIBERÉLICO, NA RESPOSTA DO TOMATE AO “CHILLING”**

Marechal Cândido Rondon
2011

UNIVERSIDADE ESTADUAL DO OESTE DO PARANÁ
***Campus* DE MARECHAL CÂNDIDO RONDON**
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO *Stricto sensu* EM AGRONOMIA
NÍVEL MESTRADO

KARINE ZACHOW

**AVALIAÇÃO DO TRATAMENTO HIDROTÉRMICO, COMBINADO AO CÁLCIO E
AO ÁCIDO GIBERÉLICO, NA RESPOSTA DO TOMATE AO “CHILLING”**

Dissertação apresentada ao programa de Pós-Graduação em Agronomia – área de concentração em Produção Vegetal, como parte das exigências para obtenção do título de Mestre.
Orientador: Prof. Dr. Gilberto Costa Braga.
Coorientadora: Prof. Dr^a. Arianne Busch Salibe

Marechal Cândido Rondon

2011

Dados Internacionais de Catalogação-na-Publicação (CIP)
(Biblioteca da UNIOESTE – Campus de Marechal Cândido Rondon – PR., Brasil)

Z16a	Zachow, Karine Avaliação do tratamento hidrotérmico, combinado ao cálcio e ao ácido giberélico, na resposta do tomate ao "chilling". / Karine Zachow. – Marechal Cândido Rondon, 2011. 46 p. Orientador: Prof. Dr. Gilberto Costa Braga Coorientadora: Ariane Busch Salibe Dissertação (Mestrado em Agronomia) - Universidade Estadual do Oeste do Paraná, Campus de Marechal Cândido Rondon, 2011. 1. Tomate - Armazenamento pós-colheita. 2. Tomate - Danos causados pelo frio - Armazenamento refrigerado. I. Universidade Estadual do Oeste do Paraná. II. Título. CDD 21.ed. 635.642 CIP-NBR 12899
------	---

A minha pequena amada, maior amor de
todos, amor incondicional, força vital,
coração que bate fora de mim:
Maria Clara.

AGRADECIMENTOS

Em primeiro lugar, agradeço Àquele que é a razão de todo meu existir: DEUS, que em sua infinita bondade e sabedoria, me conduziu até aqui.

À Universidade Estadual do Oeste do Paraná, ao Programa de Pós-Graduação em Agronomia.

À CAPES - Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior, pela concessão de bolsa pelo período de 18 meses.

Agradeço à minha família, meus pais, Hélio E. Zachow (*in memorian*) e Karin Erika Zachow, aos quais amo muito, por existirem na minha vida!! Pelos ensinamentos e incentivos, que me fizeram ser a pessoa que sou. Que apesar dos muitos momentos difíceis pelos quais passamos, sempre estiveram ao meu lado, sempre me apoiando, sem nunca medir esforços para que eu pudesse chegar até aqui.

Ao meu irmão Klaus Zachow, pelo incentivo e apoio, e à minha linda irmã, Adrielli Sulczinski, que mesmo longe, sempre esteve perto!! Amo muito vocês.

Ao meu esposo Wagner Thiago Mozer da Silva, por te aparecido na minha vida, e ter iluminado meu caminho com muito carinho e compreensão, tornando assim minha vida mais feliz. Por me proporcionar uma das coisas mais incríveis que aconteceram em minha vida que é ser mãe.

À minha pequena Maria Clara Zachow da Silva, que tenho como principal fonte de inspiração e objetivo de construir uma vida com muito amor, carinho e esperança. Sem esta pessoinha, com certeza eu não teria me dedicado desta maneira aos meus estudos. Mamid te ama muito!!

Ao meu querido Vitor Gabriel Sudatti da Silva, que assim como a Maria, tem um espaço enorme no meu coração. São essas duas figurinhas que norteiam e iluminam nossas vidas.

A Guiomar M. M. da Silva, pelo carinho, amizade e orações.

À minhas queridas tias Nilce e Ana Reni, sempre presentes, me animando quando tudo parecia perdido... Amo muito, muito mais que chocolate!!!

Ao professor e orientador Gilberto Costa Braga, pelos seus ensinamentos passados e principalmente pela amizade e humildade.

Aos professores Ariane Busch Salibe, coorientadora, e Gláucia Cristina Moreira, pelos ensinamentos, amizade, compreensão, paciência durante o decorrer de todo o mestrado.

Aos Professores Cláudio Yuji Tsutsumi, Odair José Kuhn, José Renato Stangarlin e Gláucia Cristina Moreira pelas sugestões, colaborando no enriquecimento deste trabalho.

Aos demais professores do mestrado, pela oportunidade concedida e pelos ensinamentos passados. A secretária Celei P. Martins, pela disposição e paciência em todos os momentos em que dela precisei.

Aos amigos Keli A. V. da Rosa, Matias D. Appelt, Fernando O. M. de Almeida, Daniela Herrmann, Marta Soranço e Keli Libardi pela ótima companhia, amizade incondicional e longas horas de risadas e colinhos, quando necessário!

Aos meus colegas de pesquisa, Viviane Marcela Celant, Sidiane Coltro, Luciana C. C. Balreira, Jéssica A. Vorpapel e Fabiane K. Barp, pela amizade, dedicação e contribuição no desenvolvimento dos trabalhos.

E demais colegas que não foram citados, mas merecem igual agradecimento e respeito, pois de alguma forma contribuíram para minha formação.

A todas as pessoas que de alguma forma contribuíram não só para realização deste trabalho, mas que em algum momento dedicaram a mim seu carinho e compreensão, a todos obrigado.

SUMÁRIO

RESUMO.....	7
ABSTRACT	8
LISTA DE TABELAS	9
1. INTRODUÇÃO	10
2. REVISÃO DE LITERATURA	13
2.1 A Cultura do Tomate	13
2.2 Temperatura e sensibilidade de frutos às injúrias causadas pelo frio	15
2.3 Tratamento Hidrotérmico	17
2.4 Estresse Oxidativo e o Sistema de Defesa Antioxidante	20
2.5 Proteínas relacionadas a defesa.....	22
2.5.1 Peroxidases	22
2.5.2 Polifenoloxidasas	22
3. MATERIAL E MÉTODOS	24
3.1 Amostra.....	24
3.2. Planejamento Experimental	24
3.3 Análises Físico-Químicas.....	25
3.4 Incidência de Patógenos.....	25
3.5 Ácido Ascórbico	25
3.6 β -caroteno e Licopeno	26
3.7 Compostos Fenólicos Totais.....	26
3.8 Atividade Enzimática.....	27
3.9 Análise Estatística.....	27
4. RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	28
4.1 Características Físico-Químicas	28
4.2 Incidência de Patógenos.....	30

4.3 Ácido Ascórbico e Compostos Fenólicos Totais	31
4.4 β -caroteno e Licopeno	33
4.5 Atividade de Peroxidase (POD) e Polifenoloxidase (PFO).....	34
5. CONCLUSÕES	36
6. REFERÊNCIAS.....	37

RESUMO

ZACHOW, Karine; Eng. Agron. Universidade Estadual do Oeste do Paraná, Agosto de 2011. EFEITO DO TRATAMENTO HIDROTÉRMICO, COMBINADO AO CÁLCIO E AO ÁCIDO GIBERÉLICO, NA RESPOSTA DO TOMATE AO “CHILLING”. Orientador: Dr. Gilberto Costa Braga. Co-orientadora: Dra. Arianne Busch Salibe.

O tomate (*Lycopersicon esculentum* Mill) está sujeito a danos causados pelo frio (“chilling”) durante o armazenamento refrigerado. A aplicação, em pós-colheita, de cálcio e reguladores vegetais, bem como do uso de tratamento hidrotérmico, pode contribuir para reduzir vários tipos de desordens fisiológicas nos frutos. Neste trabalho, verificou-se a influência da aplicação, pós-colheita, de cinco tratamentos, sendo eles: controle, sem choque térmico; apenas choque térmico; choque térmico + Ca 2 %; choque térmico + GA₃ 100 mg L⁻¹; e choque térmico + Ca 2 % + GA₃ 100 mg L⁻¹, associada ao tratamento hidrotérmico (45 °C) por 12 min de imersão, na resposta do tomate ao “chilling”, verificando a composição físico-química, os compostos bioativos e atividade enzimática dos frutos. Os frutos foram armazenados a 5 °C e umidade relativa de 80 % por um período de dez dias. As avaliações foram efetuadas dez dias após a retirada dos frutos das condições de refrigeração. O delineamento utilizado foi inteiramente casualizado, com cinco tratamentos e cinco repetições, sendo cada repetição caracterizada por um fruto. Aos resultados aplicou-se ANOVA, e quando o parâmetro foi significativo, suas médias foram comparadas pelo Teste de Tukey, ao nível de 5 % de probabilidade. O uso do tratamento com choque térmico foi eficiente na redução de patógenos nos frutos de tomate após o armazenamento com frio. O tratamento com choque térmico + Ca 2 % + GA₃ 100 mg L⁻¹ foi o melhor entre os demais, pois proporcionou maior concentração de ácido ascórbico, bem como de β-caroteno e fenóis totais nos frutos tratados e proporcionou redução da incidência de patógenos. O uso do GA₃ apresentou melhores resultados comparado ao Ca, quando combinados ao choque térmico, na resposta dos frutos aos efeitos do frio durante a armazenagem, necessitando de maiores investigações neste sentido.

PALAVRAS-CHAVE: *Lycopersicon esculentum*, armazenamento pós-colheita, compostos bioativos, atividade enzimática, reguladores vegetais.

ABSTRACT

ZACHOW, Karine; Eng. Agron. Universidade Estadual do Oeste do Paraná, in August 2011. EFEITO DO TRATAMENTO HIDROTÉRMICO, COMBINADO AO CÁLCIO E AO ÁCIDO GIBERÉLICO, NA RESPOSTA DO TOMATE AO "CHILLING". Orientador: Dr. Gilberto Costa Braga. Co-orientadora: Dra. Ariane Busch Salibe.

Tomato (*Lycopersicon esculentum* Mill) is subject to chilling injury during cold storage. The application of calcium and plant growth regulators in post-harvest may help to reduce a number of physiological disorders on fruits. In this work were verified the influence of the application in post-harvest of the five treatments: control, without heat shock; only heat shock; heat shock + Ca 2 %; heat shock + GA₃ 100 mg L⁻¹; and heat shock + Ca 2 % + GA₃ 100 mg L⁻¹, associated with hydrothermal treatment (45 °C) for 12 min of immersion in the response of tomato to the "chilling" and check the physical and chemical composition, the bioactive compounds and enzyme activity of the fruit. The fruits were stored at 5 °C and relative humidity of 80 % for a period of ten days. The evaluations were made ten days after removal of the fruits of the cooling conditions. The design was completely randomized with five treatments and five repetitions, each repetition being characterized by a fruit. Was applied to the ANOVA results, and when the parameter was significant, the averages were compared by Tukey test, at 5 % probability. The use of heat shock treatment was effective in reducing pathogens in tomato fruits after cold storage. Treatment with heat shock + Ca 2 % + GA₃ 100 mg L⁻¹ was the best among the rest, because it provided a higher concentration of ascorbic acid, as well as β-carotene and total phenols in the fruits treated and caused a reduction in the incidence of pathogens. The use of GA₃ showed better results compared to Ca, when combined with heat shock, the fruits response to the effects of cold storage, requiring further investigation in this direction.

KEY WORDS: *Lycopersicon esculentum*, post-harvest storage, bioactive compounds, enzymatic activity, plant growth regulators.

LISTA DE TABELAS

Tabela 1. Características físico-químicas do tomate 'Santa Clara' submetido ao tratamento hidrotérmico (choque térmico), combinado ao cálcio (Ca) e ao ácido giberélico (GA ₃) em aplicações pós colheita. Marechal Cândido Rondon, PR, 2010.....	28
Tabela 2. Incidência de patógenos no tomate 'Santa Clara' submetido a tratamento hidrotérmico (choque térmico), combinado ao cálcio (Ca) e ao ácido giberélico (GA ₃) em aplicações pós colheita, em resposta ao "chilling". Marechal Cândido Rondon, PR, 2010.....	30
Tabela 3. Ácido ascórbico (mg 100g ⁻¹) e composto fenólicos totais (mg g ⁻¹) do tomate 'Santa Clara' submetido a tratamento hidrotérmico (choque térmico), combinado ao cálcio (Ca) e ao ácido giberélico (GA ₃) em aplicações pós colheita, em resposta ao "chilling". Marechal Cândido Rondon, PR, 2010.....	32
Tabela 4. Licopeno (mg g ⁻¹) e β-caroteno (mg g ⁻¹) do tomate 'Santa Clara' submetido a tratamento hidrotérmico (choque térmico), combinado ao cálcio (Ca) e ao ácido giberélico (GA ₃) em aplicações pós colheita, em resposta ao "chilling". Marechal Cândido Rondon, PR, 2010.....	33
Tabela 5. Atividade enzimática (POD e PFO) do tomate 'Santa Clara' submetido a tratamento hidrotérmico (choque térmico), combinado ao cálcio (Ca) e ao ácido giberélico (GA ₃) em aplicações pós colheita, em resposta ao "chilling". Marechal Cândido Rondon, PR, 2010.....	34

1. INTRODUÇÃO

O tomate é uma das culturas mais comuns do mundo, sendo uma fonte importante de vitaminas e uma cultura comercial importante para pequenos agricultores e agricultores comerciais de escala média (NAIKA et al., 2006). Esta cultura registra o segundo maior volume de produção e consumo do mundo dentre as hortaliças, sendo apenas precedido pela batata (FILGUEIRA, 2003; GAYET et al., 1995).

O Brasil é um dos maiores produtores mundiais de tomate de mesa, sendo o nono produtor mundial de tomate (CHIUMARELLI e FERREIRA, 2006). A produção nacional obtida em 2008, segundo dados do Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística (IBGE), chegou a 3,8 milhões de toneladas (t), em 61 mil hectares (ha) plantados. Os maiores produtores são Goiás, São Paulo e Minas Gerais, respectivamente. A maior parte da produção (63,4 %) é destinada ao consumo *in natura*, sendo o restante destinado ao processamento de polpa (IBGE, 2011).

Os frutos do tomate são consumidos frescos, em saladas, ou cozidos, em molhos, sopas e carnes ou pratos de peixe. Podem ser processados em purés, sumos e molho de tomate (ketchup). Também os frutos enlatados e secos constituem produtos processados de importância econômica. O consumo dos frutos contribui para uma dieta saudável e bem equilibrada. Estes são ricos em minerais, vitaminas, aminoácidos essenciais, açúcares e fibras dietéticas, além de grandes quantidades de vitaminas B e C, ferro e fósforo (NAIKA et al., 2006).

Tomates são ricos em carotenóides e polifenóis. Os carotenóides são antioxidantes lipofílicos (solúveis em gordura), são precursores de substâncias aromáticas e exercem diversas funções bioquímicas nas plantas. Já os polifenóis apresentam maior caráter hidrofílico, principalmente quando ligados a moléculas de açúcares. Durante o processo de maturação, ocorrem diversas mudanças nos tomates que alteram sua composição de carotenóides e polifenóis (MELÉNDEZ-MARTÍNEZ et al., 2010).

O tomate é um fruto muito perecível, sendo necessário o uso de tecnologias de conservação para retardar a sua senescência, manter a sua qualidade e, conseqüentemente, prolongar a conservação.

O amadurecimento e a senescência do tomate envolve uma série de eventos fisiológicos coordenados que desencadeiam mudanças na pigmentação, no sabor, na firmeza de polpa e no aroma, sendo altamente influenciados pela temperatura à qual os frutos estão expostos. Assim, a qualidade do tomate para consumo é definida pelas mudanças decorrentes do metabolismo fisiológico, sendo a firmeza da polpa e a cor uns dos aspectos mais importantes (BRACKMANN et al., 2007; DE KETELAERE et al., 2004).

O armazenamento refrigerado, que consiste na redução da temperatura e no controle da umidade relativa, é um dos principais métodos utilizados para conservação de frutas e hortaliças, pois diminui o metabolismo celular, retardando a senescência (BRACKMANN et al., 2007). Entretanto, o tomate é um fruto suscetível a danos pelo frio, não suportando temperaturas inferiores a 12 °C (JACKMAN et al., 1988). A temperatura ótima de armazenamento do tomate depende do estágio de maturação, sendo que frutos verdes devem ser armazenados em temperaturas em torno de 13 °C, frutos parcialmente maduros em torno de 10 °C e frutos maduros devem ser armazenados em temperaturas em torno de 8 °C (LUENGO e CALBO, 2001; KLUGE et al., 1998).

O dano pelo frio é caracterizado pelo desenvolvimento de manchas escuras na epiderme, prejudicando a sua comercialização, sendo também um fator muito importante na avaliação da qualidade do tomate. Este distúrbio fisiológico ocorre quando os frutos são armazenados abaixo da temperatura recomendada e que a severidade do sintoma depende da temperatura e do tempo de exposição (LUENGO e CALBO, 2001).

A utilização de baixas temperaturas de armazenamento, abaixo do nível crítico fisiológico, apresenta como inconvenientes o aparecimento de desordens fisiológicas ("chilling") causadas por alterações drásticas no metabolismo dos frutos, prejudicando a sua aparência, o amadurecimento e a sua vida útil pós-colheita (WANG, 1994). Neste caso, o efeito do "chilling" é visualmente aparente quando o produto é exposto a temperaturas em torno de 20 °C (CASTRO e CORTEZ, 2002).

A aplicação pós colheita de cálcio e/ou reguladores vegetais pode contribuir para reduzir vários tipos de desordens fisiológicas. Lima e Durigan (2002) citam que o cálcio participa de forma importante na estrutura e na resistência mecânica da parede celular, facilitando ligações entre polímeros de pectina da lamela média, o que aumenta esta resistência, além de controlar o processo de desintegração da

mitocôndria, do retículo endoplasmático e da membrana citoplasmática, reduzindo a taxa respiratória. Assim, sua aplicação exógena pode contribuir para aumentar a vida pós-colheita de muitos frutos.

De acordo com Chitarra e Chitarra (2005), já foi evidenciado o papel de fitorreguladores, principalmente as giberelinas no amadurecimento de frutos, os quais têm sido estudados como retardadores da senescência. O ácido giberélico tem sido utilizado em limões e tomates para a melhoria de qualidade e aparência no armazenamento, acompanhado por outros artifícios como atmosfera controlada e modificada. As giberelinas são compostos presentes em plantas superiores, e possuem a função de retardar o amadurecimento dos frutos, afetando principalmente as mudanças de cor da casca.

Tratamentos com calor em pós colheita de frutas são utilizados para manter a qualidade dos frutos durante o armazenamento, para modificar as respostas de frutas em função de estresses e para controle de insetos e patógenos. A degradação de paredes celulares é seriamente interrompida após a exposição de frutos à temperaturas de choque térmico (PAULL e CHEN, 2000). Os tratamentos com certos reguladores vegetais e a termoterapia têm a vantagem de serem livres de resíduo e não oferecerem risco a saúde humana e ao meio ambiente, podendo ser mais uma ferramenta do controle integrado de doenças (PESSOA et al., 2007).

De acordo com Kaniuga (2008), a resposta de plantas ao “chilling” é complexa e está baseada em dois complexos metabólicos importantes: a degradação lipolítica de lipídios de membranas e um conjunto de reações oxidativas levando a peroxidação lipídica e dano às paredes celulares, envolvendo mecanismos enzimáticos como a atividade de peroxidases.

Diversas investigações científicas já foram realizadas sobre a aplicação do tratamento térmico como medida de suprimir o efeito do “chilling” em frutos, no entanto, ainda não foram realizados estudos sobre o efeito deste tratamento em combinação com o cálcio e o ácido giberélico em tomates. Portanto, o objetivo deste trabalho foi avaliar o efeito do tratamento hidrotérmico, associado ao cálcio e ao ácido giberélico, na resposta do tomate ao “chilling”, avaliando-se os compostos fenólicos totais, carotenóides, ácido ascórbico, acidez titulável, sólidos solúveis, firmeza, incidência de patógenos e atividade de peroxidase e polifenoloxidase.

2. REVISÃO DE LITERATURA

2.1 A Cultura do Tomate

O tomateiro é uma Dicotiledônea, da ordem *Tubiflorae*, família *Solanaceae* e gênero *Lycopersicon*. O tomateiro apresenta-se anatomicamente como uma planta perene, de porte arbustivo, sendo de cultivo anual. A planta pode desenvolver-se de forma rasteira, semi-ereta ou ereta. O crescimento é ilimitado nas cultivares de crescimento indeterminado, podendo chegar, a 10 m de altura em um ano. Por essa razão, o tomate para consumo *in natura* é cultivado com tutoramento (estaqueado ou envarado) (FILGUEIRA, 2003; FONTES e SILVA, 2002; SILVA e GIORDANO, 2000).

O fruto é uma baga carnosa e succulenta, bi, tri ou plurilocular. O número de lóculos no fruto normal varia de dois a vários, sendo mais ou menos característico em cada variedade. O tamanho do fruto pode variar de cinco a 500 g e está diretamente relacionado com o número de lóculos e com o número de sementes (CHITARRA e CHITARRA, 2006).

O fruto do tomateiro possui em sua composição de 93 % a 95 % de água. Nos 5 % a 7 % restantes, encontram-se compostos inorgânicos, ácidos orgânicos, açúcares, sólidos insolúveis em álcool e outros compostos. Embora as vitaminas estejam presentes em uma pequena proporção do total da matéria seca, essas substâncias são importantes do ponto de vista nutricional (SILVA e GIORDANO, 2006).

De acordo com Alvarenga (2006), o fruto fresco apresenta baixo poder calórico, baixo acúmulo de matéria seca e altos índices de cálcio e vitamina C. Quanto a quantidade de sólidos solúveis, estes se acumulam no final da fase de maturação, sendo constituído por cerca de 70 % de açúcares. Quanto ao teor de elementos minerais, o potássio é encontrado em maior quantidade, que por sua vez, tem influência na qualidade do fruto.

Segundo Costa e Caixeta Filho (1996), tomando-se um grupo de dez vitaminas e minerais, o tomate é o décimo sexto em concentração desses nutrientes, mas constitui o primeiro em sua contribuição na dieta brasileira, por ser consumido com grande frequência e em geral na forma crua.

O tomate pode ser considerado um alimento funcional devido ao alto teor de licopeno (TONON et al., 2006) e β -caroteno, que é o principal carotenóide com atividade pró-vitamina A (BEECHER, 1998). Os carotenóides são os principais responsáveis pela cor vermelha do tomate, que é o fator de primeira qualidade que o consumidor valoriza e tem uma influência notável sobre a sua aceitação (ABUSHITA et al., 2000). Além de carotenóides, o tomate possui outros compostos antioxidantes, tais como compostos fenólicos, que também contribuem para os efeitos benéficos do tomate. Fenólicos possuem caráter redutivo, capacidade de seqüestro de espécies reativas de oxigênio e vários eletrófilos, tendência para a auto oxidação e capacidade de modular a atividade de algumas enzimas das células (ROBARDS et al., 1999). Assim, o consumo de tomate e produtos à base de tomate está sendo considerado como um indicador nutricional dos bons hábitos alimentares e estilo de vida saudável.

O tomate é o segundo produto olerícola cultivado no mundo, perdendo apenas para a batata (FILGUEIRA, 2003). Entre as olerícolas produzidas no país, o tomate ocupa também a segunda posição (IBGE, 2011), sendo que 62 % da produção brasileira são destinadas ao consumo *in natura* (FERREIRA, 2004).

Após a colheita, o tomate apresenta-se como um fruto altamente perecível. O fruto maduro possui vida média de prateleira de uma semana, com perdas variando entre 25 e 50 %, enquanto o fruto parcialmente maduro apresenta vida útil de até duas semanas, com 20 a 40 % de perdas pós-colheita (BARRET REINA, 1990¹, citado por FERREIRA et al., 2005).

O principal fator associado a vida útil em pós-colheita do tomate, particularmente em regiões tropicais onde a temperatura é alta, é o aumento da respiração do fruto, o que resulta em rápido amadurecimento do fruto e deterioração da sua qualidade (BAILÉN et al., 2006). Geralmente, o amadurecimento de frutos de tomate é controlado através do uso de controle de temperatura, gases atmosféricos e umidade do ar. O uso de baixas temperaturas de armazenamento é um método confiável na manutenção e retenção de frescor do fruto, além de retardar a sua senescência, uma vez que reduz a taxa de respiração e decomposição térmica. No

¹ BARRETT REINA, L.C. **Conservação pós-colheita de tomate (*Lycopersicon esculentum*. Mill) da cultivar gigante Kada submetido a choque, a frio e armazenamento com filme de PVC.** 1990. 114 f. Dissertação (mestrado em Ciência dos Alimentos) - Faculdade de Ciência dos Alimentos, Escola Superior de Agricultura de Lavras, Lavras.

entanto, injúrias pelo frio podem afetar a qualidade das frutas se o armazenamento ocorrer abaixo de 12,5 °C (CHENG e SHEWFELT, 1998).

2.2 Temperatura e sensibilidade de frutos às injúrias causadas pelo frio

O armazenamento refrigerado representa a principal técnica utilizada para manutenção da qualidade e extensão do período pós-colheita de frutos e hortaliças. A redução da temperatura de frutos, após a colheita e sua manutenção em níveis adequados permite a conservação de sua qualidade, devido à desaceleração do metabolismo celular, retardando os processos de amadurecimento e senescência dos tecidos, o amaciamento, as mudanças na coloração e textura, as mudanças metabólicas indesejáveis, a perda de massa e o crescimento microbiano (HARDENBURG et al., 1986², citado por SESTARI, 2010).

Segundo CHITARRA e CHITARRA (2005), a refrigeração ainda é o método mais econômico para o armazenamento prolongado de frutas e hortaliças frescas. O armazenamento refrigerado visa minimizar a intensidade do processo vital dos vegetais, através da utilização de condições adequadas, que permitam redução em seu metabolismo normal, sem alterar seus processos fisiológicos.

Entretanto, o armazenamento de frutos em temperaturas abaixo de seus limites fisiológicos pode ocasionar injúrias por frio, as quais estão associadas à desordens fisiológicas. Tais desordens são observadas nos tecidos das plantas, principalmente naquelas de origem tropical e subtropical. As injúrias de frio, também conhecidas como dano de frio, dano de “chilling” ou “chilling injury”, podem ocorrer em temperaturas inferiores a 15°C e superiores a 0°C. Por definição, a ocorrência do dano de frio diferencia-se do dano por congelamento, pelo fato de não apresentar a nucleação de gelo no interior celular (SESTARI, 2010).

De acordo com Lyons (1973), a manifestação dos sintomas de dano de frio em espécies de origem tropical ocorre quando o tecido é exposto a temperaturas próximas a 12 °C, enquanto para as espécies de origem subtropical, a temperatura crítica está entorno dos 8 °C. É resultante da exposição dos tecidos a temperaturas de refrigeração abaixo da crítica, causando danos fisiológicos aos frutos, afetando

² HARDENBURG, R.E.; WATADA, A.E.; WANG, C.Y. **The Commercial Storage of Fruits, Vegetables, and Florist and Nursery Stocks**. Washington: USDA, 1986. 130p. (USDA Agriculture Handbook, 66).

negativamente sua qualidade, assim que os mesmos são removidos da refrigeração. Esses distúrbios fisiológicos são definidos como alterações de origem não patogênica decorrente de modificações no metabolismo normal da fruta, ou na integridade estrutural de seus tecidos e são fontes importantes de perdas pós-colheita (KLUGE et al., 2002). Muitas vezes, os distúrbios apenas são perceptíveis com o prolongamento do armazenamento, ou quando os produtos são levados para condição de ambiente (CHITARRA e CHITARRA, 2005).

Estes distúrbios fisiológicos levam à perda de qualidade e são caracterizados, principalmente, por modificações no sabor e na aparência, que são os componentes principais da qualidade (KLUGE et al., 2002). A área de tecido do fruto afetada pela desordem é variável, e pode estar na casca, com manutenção da camada de polpa aderente intacta, em certas áreas da polpa, ou a parte central e interna desta fruta. Os danos superficiais na casca são os mais prejudiciais, pois defeitos muito pequenos podem tornar o produto inaceitável, dependendo dos padrões estabelecidos pelo mercado, enquanto que defeitos internos, por serem menos visíveis, são os mais tolerados (CHITARRA & CHITARRA, 2005).

Os distúrbios físicos, por baixas temperaturas, nas membranas, influenciam a atividade das enzimas ligadas a elas e a habilidade de manter o gradiente de cálcio, que tem papel de mensageiro secundário em vários processos fisiológicos e bioquímicos. Baixas temperaturas também estimulam a produção de etileno, promovem aumento ou decréscimo na respiração, e induzem modificação marcante no metabolismo de poliaminas e na produção de oxigênio reativo (CHITARRA e CHITARRA, 2005).

Além do efeito da baixa temperatura, as membranas celulares também podem ser desestabilizadas por meio da peroxidação lipídica mediada por enzimas ou pela ação direta de radicais livres (BERGER et al., 2001). Em espécies sensíveis ao frio, tem sido sugerido que a baixa temperatura intensifica o estresse oxidativo dos tecidos por alterar o equilíbrio entre a geração e remoção de radicais livres, como o radical superóxido e o peróxido de hidrogênio (WANG, 1995; ZHANG et al., 2005). Quando produzidas em excesso, essas espécies reativas de oxigênio podem ser potencialmente danosas ao metabolismo celular, pois agravam o estresse oxidativo promovendo a desestabilização das membranas biológicas e a inativação de enzimas associadas ao metabolismo energético, entre várias outras enzimas

relacionadas a importantes funções metabólicas (MAALEKUU et al., 2006; HODGES et al., 2004; WANG, 1995).

Durante o processo de peroxidação lipídica, a degradação de ácidos graxos poliinsaturados como o linoléico e linolênico, que tem como subprodutos principais os íons peróxido e o malondialdeído, tem sido amplamente utilizado como indicativo de estresse oxidativo (HODGES et al., 1999) e da integridade estrutural das membranas celulares de tecidos vegetais expostos a situações de estresse, a exemplo do “chilling” (POSMYK et al., 2005).

Segundo Woolf et al. (1997b), o tratamento térmico em água ou ar, minimiza ou elimina sintomas de injúrias causadas pelo frio. Kluge et al. (2002) citaram que o uso de aquecimento intermitente e atmosfera controlada podem ser utilizados para diminuir ou aliviar estes danos pelo frio. Estas técnicas, algumas usadas comercialmente e outras experimentalmente, reduzem os distúrbios, por retardar o desenvolvimento dos sintomas, ou por aumentar a tolerância da fruta à friagem ou “chilling”.

Além dessas técnicas, Chitarra e Chitarra (2005) citam o pré-armazenamento, o tratamento com cálcio e etileno, a aplicação de cera, as diferentes embalagens, a manipulação genética, a utilização de atmosfera controlada e de inibidores de senescência são alternativas para manter a qualidade de produtos vegetais sensíveis ao “chilling”.

2.3 Tratamento Hidrotérmico

O armazenamento em baixas temperaturas, logo em seguida à colheita, é a técnica mais utilizada para prolongar a conservação dos frutos (BRON et al., 2002). Entretanto, mesmo sob condições adequadas de temperatura e umidade relativa não se obtém conservação satisfatória por longo período, devido às perdas de massa, firmeza e incidência de podridões (PICANÇO, 2009). Assim, outras técnicas têm sido estudadas para minimizar os efeitos do amadurecimento, entre elas a aplicação de tratamento térmico. O calor pode ser aplicado às frutas e hortaliças de várias maneiras: por imersões em água quente, vapor de água, ou ar quente e seco (LURIE, 1998).

O tratamento hidrotérmico é uma técnica cada vez mais utilizada para controle de pragas e doenças em frutos, a exemplo da eliminação de ovos e, ou larvas de mosca das frutas e o controle de microrganismos fitopatogênicos (LURIE, 1998). Pode ser utilizado para diminuir o metabolismo de processos ou para induzir a resistência à lesões e danos externos na casca devido à refrigeração durante o armazenamento, diminuindo, assim, problemas referentes às baixas temperaturas de armazenamento (KLUGE et al., 2006; PAULL e CHEN, 2000) e também para a inativação enzimática, que é uma das soluções encontradas pela indústria alimentícia, sendo esse recurso utilizado principalmente na conservação do produto, em seu período de elaboração e armazenamento (LUÍZ et al., 2007).

O calor provoca desativação de proteínas por causar alteração em sua configuração e conseqüente desnaturação. Desta forma, a sobrevivência de microrganismos torna-se inviável ou é dificultada uma vez que a alta temperatura pode acarretar a lise celular (FRANCO e LANDGRAF, 1996).

De modo geral, os efeitos do calor são mais efetivos para fungos e leveduras, pois não são termorresistentes. Já as bactérias podem ser sensíveis ao calor ou termorresistentes. Neste último caso, deve-se criar condições ambientais inadequadas à germinação de esporos ou à multiplicação bacteriana (GELLI e GALLO, 2002).

A influência do tratamento térmico pós-colheita sobre o amadurecimento do fruto é dependente de fatores como: termotolerância, transferência de calor, temperatura e duração da exposição, espécie, variedade, tamanho e características morfológicas do fruto e estágio de amadurecimento (PAULL e CHEN, 2000).

A exposição dos frutos a temperaturas menores ou iguais a 40-42 °C, tem demonstrado aumento da vida útil com melhora na qualidade (PAULL e CHEN, 2000; LURIE, 1998).

Para Lichter et al. (2000), o uso de água quente na conservação de alimentos apresenta uma série de vantagens que incluem relativa facilidade de utilização, tratamento em um curto espaço de tempo e ser livre de resíduos. Por outro lado, para Paull e Chen (2000), o tratamento hidrotérmico pode afetar a qualidade pós-colheita dos produtos hortícolas, causando alterações nos processos do amadurecimento, como produção de etileno, respiração, amolecimento, mudanças na degradação e/ou revelação de pigmentos, além de danos à integridade da

membrana plasmática e alterações em componentes do *flavor*, a exemplo de sabor, teores de sólidos solúveis, acidez e compostos voláteis.

O tratamento térmico com uso de água quente como meio de controle de pragas foi testado com laranja, no início da década de 20. Desde então, muito se tem pesquisado no intuito de estabelecer as melhores combinações de tempo e temperatura para cada espécie, objetivando o controle eficiente de pragas e doenças, sem causar alterações físicas e químicas nos frutos (COUEY, 1989).

O efeito do tratamento hidrotérmico de mangas na mortalidade de larvas de *Ceratitis capitata* foi observado por Mendonça et al. (2000), quantificando o total de larvas mortas. Os autores verificaram que, nos frutos infestados por larvas de 1º e 2º ínstar, a mortalidade foi de 100 % e nos testes com larvas de 3º ínstar houve sobrevivência de adultos nos frutos com pesos acima de 540 e de 730 g nos tempos de imersão de 75 e 90 minutos, respectivamente.

Woolf e Lay-Yee (1997), trabalhando com abacates 'Hass', submetidos a um pré- tratamento em água a 38 °C por 120 minutos e em seguida imersos a 50 °C por 10 minutos, verificaram que os frutos apresentaram uma redução no escurecimento da casca após uma semana de armazenamento a 6 °C. Além da redução no escurecimento, o pré-tratamento aumentou a tolerância dos frutos ao tratamento subsequente com água quente. Já Hofman et al. (2002) observaram que abacates 'Hass' quando imersos em água a 41 °C por 25 a 30 minutos ou 42 °C por 25 minutos e armazenados a 1 °C, melhoram a qualidade dos frutos, diminuindo o escurecimento da casca e da polpa.

Daiuto e Vieites (2008) observaram que o tratamento hidrotérmico utilizado a 45 °C por 10 minutos foi efetivo na diminuição da atividade da polifenoloxidase na polpa dos frutos de abacate 'Hass' verdes e amadurecidos. Os frutos amadurecidos sem tratamento térmico destacaram-se por valores elevados para a atividade desta enzima, já os frutos verdes com tratamento térmico mostraram a menor atividade. A porcentagem de inativação enzimática nos frutos amadurecidos submetidos ao tratamento térmico foi de 78 a 94 %, em relação ao fruto sem o tratamento.

Em estudos de Malakou e Nanos (2005), estes verificaram que a combinação do tratamento hidrotérmico a temperaturas médias (46 °C/ 25 min) e atmosfera modificada com embalagem em saco de polietileno demonstrou sucesso na manutenção da qualidade de pêssegos e nectarinas relativamente amadurecidos durante manuseio pós colheita.

Nogueira e Silva (1989) observaram que o calor (70, 80 e 90 °C por 2 minutos) foi considerado o melhor agente inativador do sistema enzimático responsável pelo escurecimento em banana, pêssego, maçã, cenoura, couve-flor e palmito, quando comparados com metabissulfito de potássio (0,05; 0,10 e 0,20 %) e ácido ascórbico (0,1; 0,5 e 1 %) visando determinar o método mais eficiente para controlar o escurecimento enzimático dessas frutas.

Karabulut et al. (2004) verificaram a redução do número de bagas de uva com mofo cinzento (*B. cinerea*), após exposição por 30 e 60 s em água aquecida a 50, 55 ou 60 °C, após armazenamento por 30 dias a 1 °C.

Em estudos com abacaxis, Wijeratnam et al. (2005) constataram a inibição do desenvolvimento de *Chalara paradoxa* em frutos previamente inoculados e tratados termicamente a 54 °C / 3 min, após 21 dias de armazenamento a 10 °C, seguido por 2 dias a 28 °C.

Além de atuar diretamente no controle de podridões, o tratamento térmico pode induzir respostas de defesa em frutos, através da indução da síntese de compostos como fitoalexinas ou proteínas relacionadas à patogênese (LURIE, 1998). Em tomates, a redução na taxa de degradação de mRNA codificador de peroxidase manteve a resistência dos tecidos dos frutos a doenças durante o tratamento a 38 °C por três dias, porém essa foi perdida em um ou dois dias após o tratamento (LURIE et al., 1997). Os mesmos autores relataram ainda que o tratamento inibiu o amadurecimento dos frutos e reduziu a incidência de infecções naturais que se desenvolveram durante o armazenamento.

2.4 Estresse Oxidativo e o Sistema de Defesa Antioxidante

A manutenção do equilíbrio entre a produção de radicais livres e as defesas antioxidantes (enzimas e moléculas não enzimáticas) é uma condição essencial para o funcionamento normal do organismo. Quando este equilíbrio tende para a produção de radicais livres dizemos que o organismo está em estresse oxidativo, e nestas situações os radicais livres em excesso podem oxidar e danificar lípidios celulares, proteínas e DNA, inibindo a sua função normal e conduzindo a várias doenças. Em organismos aeróbios, os radicais livres são constantemente produzidos durante o funcionamento normal da célula, na maior parte sob a forma

de espécies reativas de oxigênio (ROS) e de nitrogênio (RNS). A exposição dos organismos a radicais livres conduziu ao desenvolvimento de mecanismos de defesa endógenos para eliminá-los. Estas defesas são a resposta da evolução à inevitabilidade da existência de ROS em condições aeróbias. Alguns produtos naturais com atividade antioxidante podem auxiliar o sistema protetor endógeno (FERREIRA e ABREU, 2007).

O sistema protetor endógeno pode ser enzimático ou não enzimático. As defesas antioxidantes enzimáticas são em grande número e encontram-se espalhadas por todo o organismo, tanto no meio intracelular como no meio extracelular. Exemplo destas defesas são a superóxido dismutase, a catalase, a glutathione peroxidase, a glutathione reductase, entre outras. Entre as defesas antioxidantes não enzimáticas destacam-se compostos como a glutathione, o α -tocoferol (vitamina E), o ácido ascórbico (vitamina C), o ácido lipóico, os carotenóides, os flavonóides, entre outros (VALKO et al., 2007).

Uma das formas de oxigênio reativo, o peróxido de hidrogênio (H_2O_2), pode atuar inicialmente como molécula sinalizadora de defesa em plantas. Uma série de outras espécies reativas, bem como diversas enzimas antioxidativas são constantemente moduladas frente a determinado estresse com o objetivo de contorná-lo (SOARES e MACHADO, 2007).

Fatores anatômicos constitutivos e químicos, como cutículas, parede celular e inibidores pré-formados podem ser suficientes para prevenir a colonização de tecidos vegetais. Se a penetração ocorrer, o sistema de defesa induzido é ativado. Este inclui a rápida geração de espécies reativas de oxigênio, alterações em polímero da parede celular, síntese de metabólitos de baixo peso molecular como as fitoalexinas, produção de novas classes de proteínas relacionadas à defesa e uma resposta de hipersensibilidade seguida por morte celular programada. Coletivamente, esses sistemas primeiro inibem e depois impedem o potencial colonizador (SHEWRY e LUCAS, 1997).

Proteínas protetoras podem ser induzidas em resposta à infecção, dano ou predação. Entre elas estão as proteínas relacionadas à patogênese (PR), que por sua vez são subdivididas em diversos grupos (β - 1,3-glucanases, quitinases, peroxidases, etc) (SHEWRY e LUCAS, 1997).

2.5 Proteínas relacionadas a defesa

2.5.1 Peroxidases

O termo “peroxidase” tem por significado identificar a enzima que catalisa a oxiredução entre peróxido de hidrogênio e vários redutores. São enzimas presentes em tecidos de animais, plantas e em microrganismos (HIRAGA et al., 2001).

A peroxidase é uma importante enzima das plantas e está envolvida em diversas reações, ligações de polissacarídeos, oxidação do ácido indol-3-acético, ligações de monômeros, lignificação, cicatrização de ferimentos, oxidação de fenóis, defesa de patógenos, regulação da elongação de células e outras (KAO, 2003).

As peroxidases apresentam várias funções na defesa celular, pela sua participação na lignificação, suberização e metabolismo de parede celular (VAN LOON e VAN STRIEN, 1999). Seu funcionamento consiste em reagir com compostos contendo grupos hidroxila anexado a um anel aromático. A reação clássica destas enzimas é a oxidação desidrogenativa do guaiacol (ometoxi-fenol) que resulta na formação de radicais fenoxi, sendo que a subsequente ligação de radicais instáveis leva a polimerização não enzimática de monômeros e de maneira similar, hidroxicinamil álcool e seus derivados são convertidos em radicais fenoxi formando lignina, bem como o ácido hidroxicinâmico, contendo grupos funcionais alifáticos, é convertido em suberina (HIRAGA et al., 2001).

O estresse oxidativo estimula as peroxidases, as quais atuam na remoção de átomos de hidrogênio dos álcoois, combinando-os com peróxido de hidrogênio para formar moléculas de água, atuando assim como antioxidantes (SALISBURY e ROSS, 1992).

2.5.2 Polifenoloxidasas

A polifenoloxidase geralmente é elevada em tecidos infectados e tem grande importância para as plantas, com envolvimento nos mecanismos de defesa ou na senescência (AGRIOS, 1997³, citado por CAMPOS et al., 2004).

³ AGRIOS, G.N. **Plant pathology**. San Diego: Academic Press, 1997. 635p.

As polifenoloxidasas promovem a oxidação enzimática de compostos fenólicos, produzindo, inicialmente, quinona que rapidamente se condensa, formando pigmentos insolúveis e escuros, denominados melanina, ou reagem não-enzimaticamente com aminoácidos, proteínas ou outros compostos (ARAÚJO, 1990).

Desse modo, o escurecimento observado quando a maioria das frutas e dos vegetais é amassada, cortada ou triturada, é oriunda de reações catalisadas pela enzima polifenoloxidase. A ação dessa enzima em várias frutas e vegetais *in natura* acarreta perdas econômicas consideráveis, além de diminuição da qualidade nutritiva e alteração do sabor (ARAÚJO, 1999).

3. MATERIAL E MÉTODOS

O armazenamento dos frutos e todos os testes e análises desenvolvidos neste trabalho foram realizados no Laboratório de Tecnologia de Alimentos da Universidade Estadual do Oeste do Paraná (Unioeste), *Campus* de Marechal Cândido Rondon-PR.

3.1 Amostra

Foram utilizados frutos de tomate cultivar “Santa Clara” provenientes de produção comercial da região Oeste do Paraná, colhidos no dia anterior a instalação do experimento. Foram utilizados frutos maduros, ou seja, com a cor da casca totalmente vermelha, sendo utilizados apenas frutos sadios, de tamanhos homogêneos, cada fruto com aproximadamente 100 g, e sem apresentarem danos patogênicos ou mecânicos. Os frutos não foram higienizados, uma vez que o tratamento com choque térmico caracteriza a higienização.

3.2. Planejamento Experimental

O choque térmico foi caracterizado pela imersão dos frutos em solução de água com temperatura controlada a $45\text{ }^{\circ}\text{C} \pm 2\text{ }^{\circ}\text{C}$, por 12 minutos. O cloreto de cálcio e a giberelina foram diluídos na água utilizada para o tratamento térmico, conforme os seguintes tratamentos: choque térmico; choque térmico + Ca 2 %; choque térmico + GA₃ 100 mg L⁻¹; choque térmico + Ca 2 % + GA₃ 100 mg L⁻¹; e o correspondente controle não tratado termicamente.

Após os tratamentos, os tomates foram deixados sob repouso para secagem por 2 h, sendo então acondicionados em bandejas de poliestireno, envolvidos por filme de policloreto de vinila e armazenados em câmara controlada à temperatura de $5\text{ }^{\circ}\text{C} \pm 2\text{ }^{\circ}\text{C}$ e umidade relativa de $80\text{ \%} \pm 5\text{ \%}$. Cada bandeja continha cinco frutos, cada um caracterizando uma repetição. O tempo de armazenamento refrigerado foi de dez dias, seguido por mais dez dias de armazenagem em temperatura de $22\text{ }^{\circ}\text{C} \pm 2\text{ }^{\circ}\text{C}$, com umidade relativa de $62\text{ \%} \pm 5\text{ \%}$, quando ao final os tomates foram

analisados ou armazenados sob congelamento a -24 °C para posteriores avaliações. Todas as análises foram realizadas em duplicata.

3.3 Análises Físico-Químicas

Para avaliação da resposta do tomate ao “chilling”, foram realizadas determinações físico-químicas, sendo elas: variação de massa fresca dos frutos (em %) e determinada por diferença de massas da observação inicial em relação à observação final durante o período de armazenagem, em balança semi-analítica; sólidos solúveis, segundo a metodologia do Instituto Adolfo Lutz (2008), com os resultados expressos em °Brix; acidez titulável, determinada mediante titulação de 5 g do suco do tomate homogeneizado em 50 mL de água destilada, com solução de NaOH a 0,1 N, e resultado expresso em g 100 g⁻¹ de ácido cítrico, conforme metodologia do Instituto Adolfo Lutz (2008); firmeza dos frutos determinada com o auxílio de penetrômetro manual, perfurando-se em três pontos em torno do fruto, com resultados expressos em Kgf.

3.4 Incidência de Patógenos

O percentual de incidência de patógenos foi calculado de acordo com análise visual, segundo metodologia adaptada de Pfaffenbach et al. (2003). Foi aplicada a escala de porcentagem, variando de 0 % (zero frutos com incidência de patógenos) até 100 % (5 frutos com incidência de patógenos). Foi considerada como incidência de patógeno a ocorrência de qualquer lesão provocada por fungo ou bactéria.

3.5 Ácido Ascórbico

Para a determinação do teor de ácido ascórbico foi utilizado o método padrão da AOAC (2002), por meio de titulação com 2,6 dichlorophenol-indophenol. Os resultados foram expressos em mg de ácido ascórbico por 100 g⁻¹ de matéria fresca.

3.6 β -caroteno e Licopeno

O licopeno e o β -caroteno foram extraídos juntos e determinados por espectrofotometria, conforme o método de Nagata e Yamashita (1992). Adicionou-se 5 g da amostra macerada no solvente acetona-hexano (4:6) em um tubo de ensaio coberto com papel alumínio, para se evitar a ação da luz nos pigmentos. Em seguida, foi levado ao agitador de bancada, marca Marconi, modelo MA 102/MINI para dispersão dos pigmentos. A leitura da absorvência foi realizada em espectrofotômetro, marca SPECTRUM LAB, modelo 22E, nos seguintes comprimentos de onda: 453, 505, 645 e 663 nm. Os conteúdos de licopeno e β -caroteno foram estimados conforme as seguintes equações:

$$\text{Licopeno} = -0,0458A_{663} + 0,204A_{645} + 0,372A_{505} - 0,0806A_{453}$$

$$\beta\text{-caroteno} = 0,216A_{663} - 1,22A_{645} - 0,304A_{505} + 0,452A_{453}$$

Onde: A_{663} , A_{645} , A_{505} e A_{453} são as absorbâncias a 663 nm, 645 nm, 505 nm e 453 nm, respectivamente.

3.7 Compostos Fenólicos Totais

A determinação de fenóis totais foi baseada na metodologia proposta por Swain e Hillis (1959), com algumas adaptações, com leitura realizada em espectrofotômetro a 760 nm. Foram obtidos os extratos alcoólicos adicionando 9 mL de álcool etílico em 3 g de cada amostra de tomate. Do extrato alcoólico de cada amostra, tomou-se 0,5 mL em tubo de ensaio e adicionou-se 8 mL de água destilada e 0,5 mL do reagente Folin Ciocalteu. A solução foi homogeneizada e, após 3 min, acrescentou-se 1 mL de solução de NaCO_3 (carbonato de sódio) 1M, quando a solução foi aquecida por 5 min, a 50 °C. Utilizou-se como padrão o ácido gálico, nas concentrações de 2, 5, 10, 15 e 20 $\mu\text{g mL}^{-1}$ para a curva de calibração. A partir da equação de regressão linear obtida, realizou-se o cálculo do teor de fenólicos totais, expresso em mg de ácido gálico 100 g de amostra⁻¹.

3.8 Atividade Enzimática

A atividade enzimática foi definida pelas atividades das enzimas peroxidase (POD) e polifenoloxidase (PFO), com mascerado preparado de acordo com a metodologia descrita por Lusso e Pascholati (1999). A atividade de peroxidases foi determinada a 30 °C, através do método espectrofotométrico direto (HAMMERSCHMIDT et al., 1982), a 470 nm, pelo período de 2 min, com as medidas de densidade óptica tomadas a cada 15 seg, iniciando logo após a adição da preparação enzimática ao substrato. A atividade da enzima foi determinada pela variação ocorrida entre os valores extremos situados na faixa de incremento linear, e expressa em variação (Δ = delta) de unidade de absorbância (abs.) min^{-1} mg de peso fresco⁻¹.

A atividade das polifenoloxidasas foi determinada usando-se metodologia de Duangmal e Apeten (1999), adaptada por Kuhn (2007). O ensaio consistiu em mensurar a oxidação do catecol convertido em quinona, reação esta mediada pela enzima polifenoloxidase. A temperatura da reação foi de 30 °C e as leituras em espectrofotômetro, a 420 nm, sendo realizadas de forma direta por um período de 2 min. O diferencial entre o aumento constante da leitura da absorbância foi utilizado para a determinação da atividade. A atividade de PFO foi determinada pela variação ocorrida entre os valores extremos situados na faixa de incremento linear, e expressa em Δ de abs. min^{-1} mg de peso fresco⁻¹.

3.9 Análise Estatística

O delineamento utilizado neste trabalho foi inteiramente casualizado, com cinco tratamentos e cinco repetições, sendo cada repetição caracterizada por um fruto. Aos resultados foi aplicada a análise de variância (ANOVA) e quando significativo o parâmetro, suas médias foram comparadas pelo Teste de Tukey, ao nível de 5 % de probabilidade, utilizando o pacote estatístico SAEG – Sistema de Análises Estatísticas – Universidade Federal de Viçosa.

4. RESULTADOS E DISCUSSÃO

4.1 Características Físico-Químicas

Foi verificado que a firmeza e o pH dos frutos não foram influenciados pelos tratamentos testados, ou seja, não diferiram significativamente do controle, bem como não diferiram entre si (Tabela 1). Na prática, a retenção da firmeza durante o armazenamento reflete em frutos com maior preservação de suas características sensoriais e químicas. Por outro lado, a perda de firmeza pode ser resultado da resposta fisiológico às condições que conduzem o fruto a uma elevada taxa respiratória, como presença de injúrias e desenvolvimento de patógenos (CHITARRA e CHITARRA, 2005), o que torna a firmeza um importante indicador de qualidade do tomate. O estágio de sobrematuração dos tomates quando tratados pode ser a explicação para a falta de efeito significativo dos tratamentos sobre a firmeza, pois os eventos fisiológicos que levam a fruto à senescência são considerados irreversíveis. McDonald et al. (1999), em estudo similar com tomates, também observaram que o tratamento térmico não causou nenhum efeito sobre a firmeza.

Tabela 1. Características físico-químicas do tomate 'Santa Clara' submetido ao tratamento hidrotérmico (choque térmico), combinado ao cálcio (Ca) e ao ácido giberélico (GA₃) em aplicações pós colheita. Marechal Cândido Rondon, PR, 2010.

Tratamento	Perda de Massa (%)**	Firmeza (Kgf) ^{ns}	Sólidos Solúveis (°Brix)**	pH ^{ns}	Acidez Total (g 100g ⁻¹)**
Controle	1,36 b	1,38	4,35a	4,70	0,24 a
Choque térmico	1,58 b	1,44	4,10 a	4,51	0,27 a
Choque + Ca	8,86 a	1,28	4,00 ab	4,71	0,17 b
Choque + GA ₃	1,77 b	2,37	3,70 b	4,57	0,27 a
Choque + Ca + GA ₃	1,79 b	2,00	4,15 a	4,61	0,16 b
CV (%)	10,50	29,76	7,72	2,36	19,83

** : significativo à $p < 0,05$, ns: não significativo à $p > 0,05$.

Com relação à variação de massa (Tabela 1), verificou-se que o tratamento com choque térmico + Ca 2 % apresentou perda de massa significativamente

superior os demais tratamentos e ao controle, os quais não diferiram entre si. Este resultado está fortemente relacionado com a alta incidência de patógenos (bactérias e fungos) observada nos frutos deste tratamento (Tabela 2), o que muito provavelmente levou à aceleração dos processos degradativos relacionados a senescência, com conseqüente aumento do conteúdo de água e maior perda por evaporação. Embora o tratamento controle, sem choque térmico, tenha apresentado a mesma incidência de patógenos (80 %), apresentou menor perda de massa, muito provavelmente devido a incidência de patógenos ter ocorrido apenas pela presença de fungos, que foram menos impactantes ao fruto.

A perda de massa é um dos principais fatores na vida útil de frutos e hortícolas, sendo dependente do tempo de armazenamento e das taxas de respiração e transpiração. Do ponto de vista econômico é muito importante na hora da comercialização por estar diretamente relacionada ao murchamento. A perda de massa se relaciona ao acúmulo de água, um dos principais efeitos da senescência, pois resulta não somente em perdas quantitativas, mas também na aparência (murchamento e enrugamento), nas qualidades texturais (perda da frescura e suculência) e na perda de qualidade nutricional (CARVALHO et al., 1998).

Com relação aos sólidos solúveis totais, o tratamento com choque térmico + GA_3 100 mg L⁻¹ diferiu dos tratamentos com choque térmico, com choque térmico + Ca 2 % + GA_3 bem como do controle (4,10; 4,15 e 4,35 °Brix respectivamente), apresentando menor concentração (3,7 °Brix) (Tabela 1), o que não é favorável sob o ponto de vista de manutenção da qualidade, pois a degradação de açúcares solúveis pode ser um indicativo de que os frutos, nas condições fisiológicas avaliadas, possam estar em estágio de senescência mais avançado, comparado aos frutos dos outros tratamentos, bem como em relação ao controle.

Conforme apresentado na Tabela 1, os frutos tratados com cálcio apresentaram menor acidez titulável comparados aos demais tratamentos e ao controle. Os ácidos orgânicos presentes em alimentos influenciam o sabor, odor, cor, estabilidade e a manutenção de qualidade. Com poucas exceções, hortaliças possuem baixa acidez, podendo apresentar suscetibilidade ao ataque e deterioração por bactérias (PASCHOALINO, 1997).

Manganaris et al. (2007), em trabalho similar com pêssegos, observaram que os sólidos solúveis e a acidez titulável não foram influenciados pelos tratamentos hidrotérmicos em pós-colheita, combinados com cálcio.

4.2 Incidência de Patógenos

Conforme apresentado na Tabela 2, o tratamento com choque térmico apresentou o melhor resultado com 0 % de incidência de patógenos nos frutos, seguido dos tratamentos de choque térmico combinados com Ca e GA₃, que apresentaram 20 % de incidência de patógenos, comparado ao controle que apresentou 80 % dos frutos infectados. Esses resultados sugerem que o choque térmico e o GA₃ podem ter induzido resposta dos frutos na ativação de mecanismos endógenos de supressão do estresse oxidativo, tornando os frutos menos susceptíveis ao desenvolvimento de patógenos. A aplicação de ácido giberélico induz ao aumento dos níveis endógenos desse hormônio, que segundo Jomori et al. (2003), a sua ação pode estar relacionada à diminuição dos efeitos do etileno na senescência.

Tabela 2. Incidência de patógenos no tomate ‘Santa Clara’ submetido a tratamento hidrotérmico (choque térmico), combinado ao cálcio (Ca) e ao ácido giberélico (GA₃) em aplicações pós colheita, em resposta ao “chilling”. Marechal Cândido Rondon, PR, 2010.

Tratamento	Incidência de Patógenos (%)
Controle	80
Choque térmico	0
Choque + Ca	80
Choque + GA ₃	20
Choque + Ca + GA ₃	20

Foi observado também que a aplicação de Ca proporcionou resultado de incidência de patógenos semelhante ao controle, com 80 % dos frutos infectados. No caso do tratamento controle foi verificado apenas a ocorrência de fungos, provavelmente de fungos do gênero *Rizopus*, pelas características apresentadas pelo micélio, enquanto que no tratamento com choque térmico + Ca 2 % houve o desenvolvimento bacteriano predominante, sendo provavelmente de bactérias do gênero *Erwinia*, pela característica aquosa e fétida dos frutos acometidos.

Lurie (1998) cita que tratamentos com choque térmico em água quente são eficazes para controle de patógenos fúngicos, porque os esporos de fungos e infecções latentes estão na superfície ou nas primeiras camadas de células sob a

casca da fruta ou legume, o que concorda com os resultados verificados aqui para os frutos tratados apenas com choque térmico, o qual foi eficiente no controle de patógenos.

O que pode ter ocorrido em relação aos frutos tratados com choque térmico + Ca 2 % em relação aos frutos tratados com choque térmico + GA₃ 100 mg L⁻¹ e choque térmico + Ca 2 % + GA₃ 100 mg L⁻¹ é uma diferença de pH na superfície dos frutos, sendo que o cálcio pode ter elevado seu pH, propiciando o desenvolvimento de bactérias, que tem o desenvolvimento facilitado em pH próximo da neutralidade, diferente de fungos, que não são muito exigentes em relação ao pH do meio. Outra explicação aceitável é que os frutos tratados com GA₃ podem ter propiciado maior resistência ao ataque de patógenos, uma vez que possuem a função de retardar o amadurecimento dos frutos (CHITARRA e CHITARRA, 2005).

4.3 Ácido Ascórbico e Compostos Fenólicos Totais

A vitamina C, como também é conhecido o ácido ascórbico, possui grande poder antioxidante. O termo antioxidante é definido como uma substância que, quando presente em baixas concentrações, comparada ao substrato oxidável, reprime ou previne significativamente a oxidação desse substrato (VANNUCCHI et al., 1998). Do ponto de vista químico, a propriedade mais interessante do ácido ascórbico é sua habilidade de atuar como agente redutor (doador de elétrons), atribuída a sua capacidade de reduzir os radicais livres, como O⁻ e HO a suas formas inativas (SILVA e NAVES, 2001).

De acordo com a Tabela 3, verificou-se que o tratamento com choque térmico + Ca 2 % + GA₃ 100 mg L⁻¹ apresentou conteúdo significativamente superior aos demais tratamentos e também ao controle. Chang et al. (2006) constataram em seus estudos com tomate, utilizando ar frio e ar quente, que baixas temperaturas provocaram menor queda do teor de ácido ascórbico, observando que o tratamento a altas temperaturas levaram a enorme diminuição no teor deste. Assim, os autores concluíram que o aquecimento acelerou a oxidação de ácido ascórbico, diminuindo sua quantidade nos frutos em questão.

Tabela 3. Ácido ascórbico ($\text{mg } 100\text{g}^{-1}$) e compostos fenólicos totais (mg g^{-1}) do tomate 'Santa Clara' submetido a tratamento hidrotérmico (choque térmico), combinado ao cálcio (Ca) e ao ácido giberélico (GA_3) em aplicações pós colheita, em resposta ao "chilling". Marechal Cândido Rondon, PR, 2010.

Tratamento	Ácido ascórbico ($\text{mg } 100\text{g}^{-1}$) **	Compostos fenólicos totais (mg g^{-1}) **
Controle	19,09 b	2,25 b
Choque térmico	21,52 b	2,37 b
Choque + Ca	19,09 b	2,36 b
Choque + GA_3	16,97 b	2,35 b
Choque + Ca + GA_3	33,18 a	2,82 a
CV (%)	16,91	11,92

** : significativo à $p < 0,05$, ns: não significativo à $p > 0,05$.

A maior retenção de ácido ascórbico nos tomates tratados com Ca 2 % e GA_3 100 mg L^{-1} , combinados ao tratamento térmico, sugere que os frutos estão mais propensos a uma maior vida útil, por se tratar de uma substância antioxidante e, portanto, participante na manutenção da qualidade dos frutos.

A atividade antioxidante de plantas parece também estar correlacionada à quantidade de compostos fenólicos (CHEUNG et al., 2003). Desse modo, é importante quantificar o teor de fenólicos totais quando se considera o potencial antioxidante de tomates sob o ponto de vista fisiológico do sistema de proteção endógeno do órgão.

Observando os resultados dispostos na Tabela 3, pode-se verificar que a maior quantidade de fenóis totais foi encontrada nos tomates tratados com choque térmico + Ca 2 % + GA_3 100 mL^{-1} , diferindo significativamente das quantias encontradas nos tomates dos demais tratamentos, bem como em relação ao controle. O aumento no conteúdo de fenólicos totais pode ser um indicativo de que o mecanismo de proteção dos frutos foi intensificado, pois segundo Rice-Evans et al. (1997), as propriedades antioxidantes dos fenólicos ocorrem, principalmente, devido ao seu potencial de oxirredução, que os permitem atuar como agentes redutores, doando hidrogênio e neutralizando radicais livres.

Já em estudos realizados com tomates para processamento, utilizando tratamento com calor, frio e frio com CaCl_2 , Vallverdú-Queralt et al. (2011)

constatarem que o maior decréscimo nos conteúdos de fenóis totais esteve associado com tomates submetidos a tratamento com calor.

Chang et al. (2006) obtiveram resultados que mostraram um aumento significativo nos fenólicos totais com a utilização de ar frio, ar quente ou processamento. Os autores ainda citam que isto é possível devido à liberação de compostos fenólicos a partir da matriz celular durante o processo, quando pode ocorrer a descompartimentalização da célula.

4.4 β -caroteno e Licopeno

Assim como ocorreu com o conteúdo de ácido ascórbico nos tomates tratados com choque térmico + Ca 2 % + GA₃ 100 mg L⁻¹, a quantidade de β -caroteno também foi significativamente maior que nos demais tratamentos (Tabela 4). Embora a quantidade de licopeno não tenha diferido estatisticamente entre os tratamentos, devido ao elevado CV, pode-se observar que os tomates do mesmo tratamento apresentam maior quantidade de licopeno armazenado que os demais (Tabela 4).

Tabela 4. Licopeno (mg g⁻¹) e β -caroteno (mg g⁻¹) do tomate ‘Santa Clara’ submetido a tratamento hidrotérmico (choque térmico), combinado ao cálcio (Ca) e ao ácido giberélico (GA₃) em aplicações pós colheita, em resposta ao “chilling”. Marechal Cândido Rondon, PR, 2010.

Tratamento	Licopeno (mg g ⁻¹) ^{ns}	β -caroteno (mg g ⁻¹) ^{**}
Controle	0,35	0,10 b
Choque térmico	0,35	0,08 b
Choque + Ca	0,40	0,11 b
Choque + GA ₃	0,43	0,11 b
Choque + Ca + GA ₃	0,53	0,18 a
CV (%)	30,76	34,00

** : significativo à p<0,05, ns: não significativo à p>0,05.

Ajlouni et al. (2001) relataram que os valores de licopeno aumentaram em tomates armazenados de estufa durante o armazenamento a 22 °C por um período de 14 dias. No entanto, durante o armazenamento a 4 °C, não se observou nenhuma alteração significativa no teor de licopeno.

McDonald et al. (1999) e Soto-Zamora et al. (2005), utilizando tratamento hidrotérmico em tomates, verificaram que o conteúdo de licopeno se manteve estável, com pequenas mudanças nas frutas controle durante 12 dias a 20 °C.

4.5 Atividade de Peroxidase (POD) e Polifenoloxidase (PFO)

Conforme apresentado na Tabela 5, verificou-se que não houve efeito significativo para peroxidase, apenas para polifenoloxidase, sendo que os tomates tratados com choque térmico + Ca 2 % + GA₃ 100 mg L⁻¹ se diferiram dos demais tratamentos, apresentando a maior atividade de PFO. Entretanto, para este tratamento foi encontrado o maior conteúdo de fenólicos totais (Tabela 3). Em tese, espera-se que a maior atividade de PFO esteja relacionada à diminuição no conteúdo de fenólicos totais no fruto, pois estes são os substratos da reação que envolve essas enzimas, cujos efeitos estão relacionados ao escurecimento devido a injúrias mecânicas ou lesão por patógenos.

Tabela 5. Atividade enzimática (POD e PFO) do tomate ‘Santa Clara’ submetido a tratamento hidrotérmico (choque térmico), combinado ao cálcio (Ca) e ao ácido giberélico (GA₃) em aplicações pós colheita, em resposta ao “chilling”. Marechal Cândido Rondon, PR, 2010.

Tratamento	Peroxidase (POD) ^{ns} (abs min ⁻¹ mg ⁻¹ de peso fresco ⁻¹)	Polifenoloxidase (PFO) ^{**} (abs min ⁻¹ mg ⁻¹ de peso fresco ⁻¹)
Controle	0,183	0,027 ab
Choque térmico	0,178	0,028 ab
Choque + Ca	0,165	0,018 b
Choque + GA ₃	0,183	0,016 b
Choque + Ca + GA ₃	0,172	0,045 a
CV (%)	20,06	37,60

** : significativo à p<0,05, ns: não significativo à p>0,05.

O controle da atividade da peroxidase e polifenoloxidase é de grande importância para a tecnologia de alimentos, uma vez que estas são responsáveis pelo escurecimento em frutas e vegetais e seus produtos processados (CLEMENTE e PASTORE, 1998). A ocorrência de elevação na atividade de POD e PFO está relacionada a algum tipo de estresse sofrido pelo órgão vegetal, causando danos às

células e tecidos, devido à peroxidação lipídica. A exposição do fruto à temperatura abaixo do limite fisiológico é outra importante causa de estresse fisiológico (“chilling”) e, conseqüentemente, pode influenciar no aumento da atividade de peroxidases como mecanismo de neutralização da peroxidação lipídica, porém esse aumento não foi verificado em frutos de nenhum tratamento ou controle testados. Outro tipo de estresse associado a ativação de PFO é causado por patógeno, sendo o mecanismo de defesa envolvendo a formação de melanina. Porém sua atividade não foi influenciada por nenhum dos tratamentos, pois não diferiram significativamente do controle.

Floros et al. (1992), em experimento com tomates, relataram que o uso de cálcio sem o tratamento térmico foi suficiente para inibir a atividade das enzimas peroxidase e polifenoloxidase. No entanto, Rensburg e Engelbrecht (1986), em estudos com abacates, relataram que tratamentos com cálcio suprimiram tanto a respiração e a oxidação de polifenóis, como também reduziram o teor de fenólicos totais e outros antioxidantes.

Pesquisas futuras poderão ser realizadas, sobre o efeito do tratamento hidrotérmico na resposta do tomate ao “chilling”, quando poderia ser interessante que se realizassem avaliações sobre a enzima fenilalanina amônia-liase, pois esta enzima catalisa reações importantes na formação de muitos compostos fenólicos, bem como verificar o pH das soluções de tratamento, para melhores comprovações de alguns resultados.

5. CONCLUSÕES

O uso do tratamento com choque térmico foi eficiente na redução de patógenos nos frutos de tomate após o armazenamento com frio. O tratamento com choque térmico + Ca 2 % + GA₃ 100 mg L⁻¹ foi o melhor entre os demais, pois proporcionou maior concentração de ácido ascórbico, bem como de β-caroteno e fenóis totais nos frutos tratados e proporcionou redução da incidência de patógenos. O uso do GA₃ apresentou melhores resultados comparado ao Ca, quando combinados ao choque térmico, na resposta dos frutos aos efeitos do frio durante a armazenagem, necessitando de maiores investigações neste sentido.

6. REFERÊNCIAS

ABUSHITA, A.A.; DAOOD, H.G.; BIACS, P.A. Change in carotenoids and antioxidant vitamins in tomato as a function of varietal and technological factors. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v.48, n.6, p.2075-2081, 2000.

ALVARENGA, M.A.R. **Tomate: produção em campo, em casa-de-vegetação e em hidroponia**. Lavras: Editora UFLA, 2006. 400 p.

AJLOUNI, S.; KREMER, S.; MASIH, L. Lycopene content in hydroponic and non-hydroponic tomatoes during postharvest storage. **Food Australia**, v.53, p.195–196, 2001.

ARAÚJO, S.A. **Escurecimento enzimático em alimentos**. Viçosa: UFV, 1990. (Boletim técnico, v. 231).

ARAÚJO, J. M. A. **Química dos alimentos**. Viçosa: UFV, 1999.

AOAC. (ASSOCIATION OF OFFICIAL ANALYTICAL CHEMISTS). **Official methods of analysis**. 16.ed. Arlington: AOAC, 2002.

BAILÉN, G.; GUILLÉN, F.; CASTILLO, S.; SERRANO, M.; VALERO, D.; MARTÍNEZ-REMERO, D. Use of activated carbon inside modified atmosphere packages to maintain tomato fruit quality during cold storage. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v.54, p.2229–2235, 2006.

BEECHER, G. R. Nutrient content of tomatoes and tomato products. **Proceedings of the Society for Experimental Biology and Medicine**, v.218, p.98–100, 1998.

BERGER, S.; WEICHERT, H.A.; PORZEL, C.; WASTERACK, H.K.; FEUSSNER, I. Enzymatic and non-enzymatic lipid peroxidation in leaf development. **Biochemical et Biophysical Acta**, v.1533, p.266-276, 2001.

BRACKMANN, A.; STEFFENS, C.A.; ANDRIOLO, J.L. Armazenamento de tomate cultivar “Cronus” em função do estágio de maturação e da temperatura. **Ciência Rural**, v.37, n.5, set-out, 2007.

BRON, I.U.; JACOMINO, A.P.; APPEZZATO-DA-GLORIA, B. Alterações anatômicas e físico-químicas associadas ao armazenamento refrigerado de pêssegos 'Aurora-1' e 'Dourado-2'. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 37, n. 10, p. 1349-1358, 2002.

CAMPOS, A.D.; FERREIRA, A.G.; HAMPE, M.M.V.; ANTUNES, I.F.; BRANCÃO, N.; SILVEIRA, E.P.; OSÓRIO, V.A.; AUGUSTIN, E. Atividade de peroxidase e polifenoloxidase na resistência do feijão à antracnose. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v.39, n.7, p.637-643, 2004.

CARVALHO, V.A.; DAIUTO, A.R.; LIMA, L.C.O.; GEBER, D.A.O. Emprego do ácido giberélico (GA₃) na conservação de caqui (*Diospyros kaki* L.) cv. Fuyu, armazenado em atmosfera modificada sob refrigeração. **Revista da Universidade de Alfenas**, v.4, p.121-126, 1998.

CASTRO, L.R. de; CORTEZ, L.A.B. **Aplicação da refrigeração na conservação pós-colheita do tomate.** Disponível em: <http://www.nipeunicamp.org.br/agrener/anais/2000/2_2.pdf>. Acesso em 08/12/2010.

CHANG, C.; LIN, H.; CHANG, C.; LIU, Y. Comparisons on the antioxidant properties of fresh, freeze-dried and hot-air-dried tomatoes. **Journal of Food Engineering**, v.77, p.478–485, 2006.

CHENG, T.S.; SHEWFELT, R.L. Effect of chilling exposure of tomatoes during subsequent ripening. **Journal of Food Science**, v.53, p.1160–1162, 1998.

CHEUNG, L.M.; CHEUNG, P.C.K.; OOI, V.E.C. Antioxidant activity and total phenolics of edible mushroom extracts. **Food Chemistry**, v.80, n.2, p.249-255, 2003.

CHITARRA, M.I.F.; CHITARRA, A.B. **Pós-colheita de frutas e hortaliças: fisiologia e manuseio** – 2ª ed. Lavras: ESAL/FAEPE, 2005. 320p.

CHITARRA, M.I.F.; CHITARRA, A.B. **Pós-colheita de frutas e hortaliças: Glossário.** Lavras: UFLA, 2006. 256p.

CHIUMARELLI, M.; FERREIRA, M.D. Qualidade pós-colheita de tomates 'Débora' com utilização de diferentes coberturas comestíveis e temperaturas de armazenamento. **Horticultura Brasileira**, v.24, p.381-385, 2006.

CLEMENTE, E.; PASTORE, G.M. Peroxidase and polyphenoloxidase, the importance for food technology. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v. 32, p. 167-171, 1998.

COSTA, F. G.; CAIXETA FILHO, J. V. **Análise das Perdas na Comercialização de tomate: um estudo de caso**. São Paulo: [s.n.], 1996. 26p.

COUEY, H. M. Heat treatment for control of postharvest diseases and insect pests of fruits. **HortScience**, v.24, n.2, p.198-202, 1989.

DAIUTO, E. R.; VIEITES, R. L. Atividade da peroxidase e polifenoloxidase em abacate da variedade Hass, submetidos ao tratamento térmico. **Revista Iberoamericana Tecnología Postcosecha**, v. 9, n. 2, p. 106-112, 2008.

DE KETELAERE, B. et al. Tomato cultivar grouping based on firmness change, shelf life and variense during postharvest storage. **Postharvest Biology and Technology**, v.34, p.187-201, 2004.

DUANGMAL, K.; APENTEN, R.K.O. A comparative study of polyphenoloxidases from taro (*Colocasia esculenta*) and potato (*Solanum tuberosum* var. Romano). **Food Chemistry**, v.64, p.351-359, 1999.

FERREIRA, I.C.F.R.; ABREU, R.M.V. Stress oxidativo, antioxidantes e fitoquímicos. **Bioanálise**, n.2, p.32-39, 2007.

FERREIRA, S.M.R. **Características de qualidade do tomate de mesa (*Lycopersicum esculentum* Mill.) cultivado nos sistemas convencional e orgânico comercializado na região metropolitana de Curitiba**. 231f. Tese (doutorado) – Universidade Federal do Paraná, Curitiba-PR, 2004.

FERREIRA, M.D.; FRANCO, A.T.O.; TAVARES, M. Técnicas de colheita para tomate de mesa. **Horticultura Brasileira**, v.23, n.4, p.1018-1021, out-dez 2005.

FILGUEIRA, F.A.R. **Novo Manual de Olericultura: agrotecnologia moderna na produção e comercialização de hortaliças**. 2. ed.: Viçosa: UFV, 2003, 421p.

FLOROS, J.D.; EKANAYAKE, A.; ABIDE, G.P.; NELSON, P.E. Optimization of a diced tomato calcification process. **Journal of Food Science**, v.57, p.1144–1148, 1992.

FONTES, P.C.R.; SILVA, D.J.H. **Produção de tomate de mesa**. Viçosa: Aprenda Fácil, 2002. 197p.

FRANCO, B. & LANDGRAF, M. **Microbiologia dos Alimentos**. Rio de Janeiro: Atheneu, 1996.181p.

GAYET, J. P.; BLEINDROTH, E. W.; MATALLO, M.; GARCIA, E. E. C.; GARCIA, A. E.; ARDITO, E. F. G.; BORDIN, M. R. **Tomate para Exportação: Procedimentos de Colheita e Pós-Colheita**. Brasília: EMBRAPA-SPI, 1995. 34p. Série Publicações Técnicas FRUPEX, 13.

GELLI, D.; GALLO, C. R. **Qualidade em Alimentos II: qualidade em alimentos sob o aspecto higiênico-sanitário** - Módulo 4. Brasília, Centro de Excelência em Turismo da Universidade de Brasília, 2002.

HAMMERSCHMIDT, T.R.; NUCLES, E.M.; KUC, J. Association of enhanced peroxidase activity with induced systemic resistance of cucumber to *Colletotrichum lagenarium*. **Physiological Plant Pathology**, v.20, p.73-82, 1982.

HIRAGA, S.; SASAKI, K.; ITO, H.; OHASHI, Y.; MATSUI, H. A large family of class plant peroxidases. **Plant and Cell Physiology**, v. 42, n. 5, p. 462-468, 2001.

HODGES, D.M.; LESTER, G.E.; MUNRO, K.D.; TOIVONEN, P.M.A. Oxidative stress: importance for postharvest quality. **HortScience**, v.39, p.924-929, 2004.

HODGES, D.M.; DELONG, J.M.; FORNEY, C.F.; PRANGE, R.K. Improving the thiobarbituric acid-reactive assay for estimating lipid peroxidation in plant tissues containing anthocyanin and other interfering compounds. **Planta**, v.207, p.604-611, 1999.

HOFMAN, P.J.; STUBBINGS, B.A.; ADKINS, M.F.; MEIBURG, G.F.; WOOLF, A.B.. Hot water treatments improve 'Hass' avocado fruit quality after cold disinfestation. **Postharvest Biology and Technology**, v. 24, n. 2, p. 183- 192, 2002.

IBGE – INSTITUTO BRASILEIRO DE GEOGRAFIA E ESTATISTICA. **Levantamento sistemático da produção agrícola**. Disponível em: <<http://sidra.ibge.gov.br/bda/>> Acesso em: 14 jul. 2011.

INSTITUTO ADOLFO LUTZ. **Métodos físico-químicos para análise de alimentos** - 4ªed. (1ª ed. versão digital). São Paulo: Instituto Adolfo Lutz, 2008. 102

JACKMAN, R.L.; YADA, R.Y.; MARANGONI, A.; PARKIN, K.L.; STANLEY, D.W. Chilling injury. A review of quality aspects. **Journal of Food Quality**, v.11, n.4, p.253-278, 1988.

JOMORI, M. L. L.; KLUGE, R. A.; JACOMINO, A. P.; TAVARES, S. Conservação refrigerada de lima ácida 'Tahiti': Uso de 1-metilciclopropeno, ácido giberélico e cera. **Revista Brasileira de Fruticultura**, v.25, n.3, p.406-409, 2003.

KANIUGA, Z. Chilling response of plants: importance of galactolipase, free fatty acids and free radicals. **Plant Biology**, v.10, n.2, p.171-184, 2008.

KAO, C.H. Differential effect of sorbitol and polyethylene glycol on antioxidant enzymes in rice leaves. **Plant Growth Regulation**, v.39, p.83-89, 2003.

KARABULUT, O.A.; GLABER, F.M.; MANSOUR, M.; SMILANICK, J.L. Post harvest ethanol and hot water treatments of table grapes to control gray mold. **Post harvest Biology and Technology**, v. 34, p. 169-177, 2004.

KLUGE, R. A.; AZEVEDO, R.A.; JOMIRI, M.L.L.; EGAFI, F.K.; JACOMINO, A.P.; GAZIOLA, S.A.; AGUILA, J.S.. Efeitos de tratamentos térmicos aplicados sobre frutas cítricas armazenadas sob refrigeração. **Ciência Rural**, v. 36, n. 5, p.1388-1396, 2006.

KLUGE, R. A.; NACHTIGAL, J. C.; FACHINELLO, J. C.; BILHALVA, A. B. **Fisiologia e manejo pós-colheita de frutas de clima temperado**. Campinas: Editora Rural, 2002. 214p.

KLUGE, R.A.; RODRIGUES, D.S.; MINAMI, K. Aquecimento intermitente de tomates: efeito sobre injúrias pelo frio. **Horticultura Brasileira**, v. 16, n. 1, maio 1998.

KUHN, O.J. **Indução de resistência em feijoeiro (*Phaseolus vulgaris*) por acibenzolar-S-metil e *Bacillus cereus*: aspectos fisiológicos, bioquímicos e parâmetros de produção**. 2007. 140p. Tese (doutorado em agronomia) Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz", USP, Piracicaba.

LICHTER, A. et al. Hot water brushing: an alternative method to SO₂ fumigation for color retention of litchi fruits. **Postharvest Biology and Technology**, v. 18, n. 3, p.235-244, 2000.

LIMA, M.A.; DURIGAN, J.F. Reguladores vegetais na conservação pós-colheita de goiabas 'Paluma'. **Revista Brasileira de Fruticultura**, v. 24, n.2, p.370-375, 2002.

LUENGO, R.F.A.; CALBO, A.G. **Armazenamento de hortaliças**. Brasília: Embrapa Hortaliças, 2001. 242p.

LUÍZ, R.C.; HIRATA, T.A.M.; CLEMENTE, E. Cinética de inativação da polifenoloxidase e peroxidase de abacate (*Persea americana* Mill.). **Ciência e Agrotecnologia**, v. 31, n. 6, p. 1766-1773, 2007.

LURIE, S. Postharvest heat treatments. Review. **Postharvest Biology and Technology**, v.14, p.257–269, 1998.

LURIE, S.; FALLIK, E.; HANDROS, A.; SHAPIRA, R. The possible involvement of peroxidase in resistance to *Botrytis cinerea* in heat treated tomato fruit. **Physiological and Molecular Plant Pathology**, v. 50, p. 141-149, 1997.

LUSSO, M. F. G.; PASCHOLATI, S. F. Activity and isoenzymatic pattern of soluble peroxidases in maize tissues after mechanical injury or fungal inoculation. **Summa Phytopathological**, v. 25. p. 244-249, 1999.

LYONS, J.M. Chilling injury in plants. **Annual Review of Plant Physiology**, n.24, p. 445-466, 1973.

MAALEKUU, K.; ELKIND, Y.; LEIKIN-FRENKEL, A.; LURIE, S., FALLIK, E. The relationship between water loss, lipid content, membrane integrity and LOX activity in ripe pepper fruit after storage. **Postharvest Biology and Technology**, v.42, p.248-255, 2006.

MALAKOU, A.; NANOS, G.D. A combination of hot water treatment and modified atmosphere packaging maintains quality of advanced maturity 'Caldesi 2000' nectarines and 'Royal Glory' peaches. **Postharvest Biology and Technology**, v. 38, n. 2, p.106- 114, 2005.

MANGANARIS, G.A.; VASILAKAKIS, M.; DIAMANTIDIS, G.; MIGNANI, I. The effect of postharvest calcium application on tissue calcium concentration, quality attributes, incidence of flesh browning and cell wall physicochemical aspects of peach fruits. **Food Chemistry**, n.100, p.1385–1392, 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 and Technology**, v.16, p.147–155, 1999.

MELÉNDEZ-MARTÍNEZ, A.J.; FRASER, P.; BRAMLEY, P. Accumulation of health promoting phytochemicals in wild relatives of tomato and their contribution to in vitro antioxidant activity. **Phytochemistry**, v.71, n .10, p.1104-1114, July 2010.

MELÉNDEZ-MARTINEZ, A.J.; BRITTON, G.; VICARIO, I.M.; HEREDIA, F.J. Relationship between the colour and the chemical structure of carotenoid pigments. **Food Chemistry**, v. 101, n. 3, p. 1145-1150, 2007.

MENDONÇA, M.C.; NASCIMENTO, A.S.; CALDAS, R.C.; PEREIRA FILHO, C.A. Efeito do tratamento hidrotérmico de mangas na mortalidade de larvas de *Ceratitis capitata* (Wied) (Diptera: Tephritidae). **Anais da Sociedade Entomológica do Brasil**, v. 29, n. 1, p. 139-145, 2000.

NAGATA, M.; YAMASHITA, I. Simple method for simultaneous determination of chlorophyll and carotenoids in tomato fruit. **Journal of the Japanese Society for Food Science and Technology**, v. 39, n.10, p.928-928, 1992.

NAIKA, S.; JEUDE, J.V.L.; GOFFAU, M.; HILMI, M.; DAM, B.V. **A cultura do tomate: produção, processamento e comercialização** – 1ª ed. port. Wageningen: Fundação Agromisa e CTA, Agrodok 17, 2006.

NEVES, L.C.; RODRIGUES, A.C.; VIEITES, R.L. Cloreto de cálcio na pós-colheita da maçã frigoarmazenada. **Revista Brasileira de Agrociência**, v.6, n.2, 120-122, mai/ago, 2000.

NOGUEIRA, J. N.; SILVA, E. Efeito comparativo do calor, SO₂ e ácido ascórbico na atividade da polifenol oxidase e peroxidase de algumas frutas e hortaliças. **Anais da Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz**, v. 46, n. 2, p. 453-471, 1989.

PAULL, R.E.; CHEN, N.J. Heat treatment and fruit ripening. **Postharvest Biology and Technology**, v. 21, n. 1, p. 21-37, 2000.

PESSOA, W.R.L.S.; LOPES, A.L.; COSTA, V.S.O. Efeito do tratamento hidrotérmico associado a indutores de resistência no manejo da antracnose da goiaba em pós-colheita. **Caatinga**, v.20, n.3, 129-135, jul/set 2007.

PFAFFENBACH, L.B.; CASTRO, J.V.; CARVALHO, C.R.L.; ROSSETTO, C.J. Efeito da atmosfera modificada e da refrigeração na conservação pós-colheita de manga Espada Vermelha. **Revista Brasileira de Fruticultura**, v.25, n.3, p.410-413, 2003.

PICANÇO, N. F. M. **Qualidade de caqui armazenado sob refrigeração: estádios de maturação, destanização e irradiação ionizante**. 2009. 125 f. Tese (Doutorado em Agronomia/Energia na Agricultura)-Faculdade de Ciências Agrônômicas, Universidade Estadual Paulista, Botucatu, 2009.

POSMYK, M.M.; BAILLY, C.; SZAFRÁNSKA, K.; JANA, K.M.; CORBINEAU, F. Antioxidant enzymes and isoflavonoids in chilled soybean (*Glycine max* (L.) Merr.) seedling. **Journal of Plant Physiology**, v.162, p.403–412, 2005.

RENSBURG, E.V.; ENGELBRECHT, A. Effect of calcium salts on susceptibility to browning of avocado fruit. **Journal of Food Science**, v.51, p.1067–1068, 1986.

RICE-EVANS, C.A.; MILLER, N.J., PAGANGA, G. Antioxidant properties of phenolic compounds. **Trends Plant Science**, v.2, n.4, p.152-159, 1997.

ROBARDS, K.; PRENZLER, P.D.; TUCKER, G.; SWATSITANG, P.; GLOVER, W. Phenolic compounds and their role in oxidative processes in fruits. **Food Chemistry**, v.66, p.401–436, 1999.

SALISBURY, F.B.; ROSS, C.W. **Plant physiology**. 4th ed. Belmont: Wadsworth, 1992.

SESTARI, I. **Indução de tolerância de frutos às injúrias de frio: aspectos fisiológicos e bioquímicos**. Piracicaba, 2010. 142 p.Tese (Doutorado) - Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”, 2010.

SHEWRY, P.R.; LUCAS, J.A. Plant proteins that confer resistance to pests and pathogens. **Advances In Botanical Research Incorporating Advances In Plant Pathology**, v. 26, p. 135-192, 1997.

SILVA, J.B.C.; GIORDANO, L.B. **Cultivo de tomate para industrialização**. Sistemas de Produção, 1 - 2ª Edição. Embrapa Hortaliças, Versão Eletrônica Dez./2006. Disponível em: <
http://sistemasdeproducao.cnptia.embrapa.br/FontesHTML/Tomate/TomateIndustrial_2ed/importancia.htm>. Acesso em 08/07/2011.

SILVA, J.B.C.; GIORDANO, L.B. **Tomate para processamento industrial**. Brasília: Embrapa Comunicacao para transferencia de Tecnologia. – Embrapa Hortaliças, 2000. 168p.

SOARES, A.M.S.; MACHADO, O.L.T. Defesa de plantas: Sinalização química e espécies reativas de oxigênio. **Tropica**, v.1, n.1, p.9-19, 2007.

SOTO-ZAMORA, G.; YAHIA, E.M.; BRECHT, J.K.; GARDEA, A. Effects of postharvest hot air treatments on the quality and antioxidant levels in tomato fruit. **Swiss Society of Food Science and Technology**, v.38, p.657-663, 2005.

SWAIN, T.; HILLIS, W.E. The phenolic constituents of prunus domestica. The quantitative analysis of phenolic constituents. **Journal of the Science the Food and Agriculture**, v. 10, p. 63-68, 1959.

TONON, R. V.; BARONI, A. F.; HUBINGER, M. D. Estudo da Desidratação Osmótica de Tomate em Soluções Ternárias pela Metodologia de Superfície de Resposta. **Ciência Tecnologia de Alimentos**, v. 26, n. 3, p. 715-723, jul./set. 2006

VALKO, M.; LEIBFRITZ, D.; MONCOL, J. CRONIN, M.T.; MAZUR, M.; TELSER, J. Free radicals and antioxidants in normal physiological functions and human disease. **The International Journal of Biochemistry & Cell Biology**, v.39, p.44-84, 2007.

VALLVERDÚ-QUERALT, A.; MEDINA-REMÓN, A.; ANDES-LACUEVA, C.; LAMUELA-RAVENTOS, R.M. Changes in phenolic profile and antioxidant activity during production of diced tomatoes. **Food Chemistry**, v.126, p.1700–1707, 2011.

VAN LOON, L.C.; VAN STRIEN, E.A. The families of pathogenesis-related proteins, their activities, and comparative analysis of PR-1 type proteins. **Physiological and Molecular Plant Pathology**, v. 55, p. 85-97, 1999.

WANG, C.Y. Effect of temperature preconditioning on catalase, peroxidase, and superoxide dismutase in chilled zucchini squash. **Postharvest Biology and Technology**, v.5, p.67-76, 1995.

WANG, C.Y. Chilling injury of tropical horticultural commodities. **HortScience**, v. 29, n. 9, p. 986-988, 1994.

WIJERATNAM, R.S.W.; HEWAJULIGE, I.G.N.; ABEYRATNE, N. Postharvest hot water treatment for the control of Thielaviopsis black rot of pineapple. **Postharvest Biology and Technology**, v. 36, p. 323-327, 2005.

WOOLF, A. B.; LAY-YEE, M. Pretreatments at 38°C of 'Hass' Avocado Confer Thermotolerance to 50 °C Hot Water Treatments. **HortScience**, v. 32, n. 4, p.705-708, 1997.

WOOLF, A.B.; BALL, S.; SPOONER, K.J.; LAY-YEE, M.; FERGUSON, I.B.; WATKINS, C.B.; GUNSON, A.; FORBES, S.K. Reduction of chilling injury in the sweet persimmon Fuyu during storage by dry air heat treatments. **Postharvest Biology and Technology**, v.11, p. 155–164, 1997b.

ZHANG, J.; HUANG, W.; PAN, Q.; LIU, Y. Improvement of chilling tolerance and accumulation of heat shock proteins in grape berries by heat pretreatment. **Postharvest Biology and Technology**, v.38, n. 1, p. 80-90, 2005.