



UNIVERSIDADE FEDERAL DE RIO GRANDE
ESCOLA DE QUÍMICA E ALIMENTOS
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM ENGENHARIA E CIÊNCIA DE
ALIMENTOS

**COMPOSTOS DE DEFESA EM TOMATES (*Solanum lycopersicum*) DE CULTIVO
ORGÂNICO E CONVENCIONAL E SUA SUSCEPTIBILIDADE À
CONTAMINAÇÃO FÚNGICA E MICOTOXICOLÓGICA**
MARCY HELI PAIVA RODRIGUES

ELIANA BADIALE-FURLONG

Orientador

TAIANA DENARDI DE SOUZA

co-orientador

RIO GRANDE, RS

2021

UNIVERSIDADE FEDERAL DE RIO GRANDE
ESCOLA DE QUÍMICA E ALIMENTOS
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM ENGENHARIA E CIÊNCIA DE
ALIMENTOS

**COMPOSTOS DE DEFESA EM TOMATES (*Solanum lycopersicum*) DE CULTIVO
ORGÂNICO E CONVENCIONAL E SUA SUSCEPTIBILIDADE À
CONTAMINAÇÃO FÚNGICA E MICOTOXICOLÓGICA**
MARCY HELI PAIVA RODRIGUES

Tese apresentada como parte dos
requisitos para obtenção do
título de doutor em Engenharia e
Ciência de Alimentos.

ELIANA BADIALE-FURLONG
Orientador
TAIANA DENARDI DE SOUZA
co-orientador

RIO GRANDE, RS
2021

Ficha Catalográfica

R696c Rodrigues, Marcy Heli Paiva.

Compostos de defesa em tomates (*Solanum lycopersicum*) de cultivo orgânico e convencional e sua susceptibilidade à contaminação fúngica e micotoxicológica / Marcy Heli Paiva Rodrigues. – 2021.
159 f.

Tese (doutorado) – Universidade Federal do Rio Grande – FURG, Programa de Pós-Graduação em Engenharia e Ciência de Alimentos, Rio Grande/RS, 2021.

Orientadora: Dra. Eliana Badiale-Furlong.

Coorientadora: Dra. Taiana Denardi de Souza.

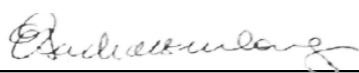
1. *Aspergillus* 2. Compostos fenólicos 3. Enzimas de defesa
4. Ocratoxina A 5. *Penicillium* 6. Patulina I. Badiale-Furlong, Eliana
II. Souza, Taiana Denardi de III. Título.

CDU 635.64

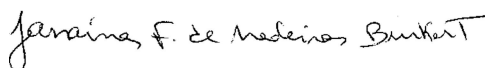
Catálogo na Fonte: Bibliotecário José Paulo dos Santos CRB 10/2344

APROVAÇÃO

Tese defendida por Marcy Heli Paiva Rodrigues, com orientação da Profa. Dra. Eliana Badiale Furlong, aprovada em 17 de setembro de 2021, pela Comissão Examinadora constituída pelos membros:



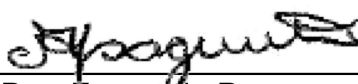
Profa. Dra. Eliana Badiale Furlong – FURG



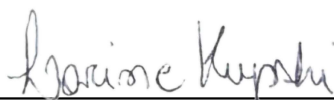
Profa. Dra. Janaína Fernandes Medeiros Burkert - FURG



Profa. Dra. Jacqueline Garda Buffon – FURG



Profa. Dra. Fernanda Pagnussat – FURG



Profa. Dra. Larine Kupski – UEM

AGRADECIMENTOS

Aos meus pais, Jurema e Luiz Carlos, por priorizarem minha educação e terem me dado todas as oportunidades para evoluir.

Minha orientadora, Eliana, por ser meu maior exemplo de profissional para seguir, por acreditar em mim e ajudar na minha evolução pessoal e profissional, por me apresentar este mundo da ciência o qual eu não quero deixar de fazer parte jamais. Obrigada por tudo!

Ao meu time de Carolinas (es), Carolina Marques, Caroline Senna e Carolina Collazzo, que contribuírem de forma primordial para que esta tese pudesse estar concluída hoje, pela dedicação de vocês em cumprir as tarefas e principalmente pela confiança que existia entre nós. Posso afirmar que conquistei três amigas que quero levar por toda vida.

Às amigas que construí ao longo destes anos, Anelise e Verônica, obrigada por dividirem esta caminhada comigo nestes quatro anos, nossos momentos mais engraçados, nossos desabafos e nossa cumplicidade estarão marcados na minha memória para sempre. À Andressa pela sororidade e Francine pela parceria, vocês estarão comigo para sempre.

À todos membros do LAMCA, muito obrigada!

À Maristela, por toda ajuda fornecida para conclusão deste trabalho e pela profissional exemplar que és. Afirmo com toda certeza que és a melhor técnica que a EQA.

Ao João que me acompanhou nesta jornada acadêmica sempre dividindo seus conhecimentos de química comigo e pela amizade que construímos.

Ao período que estive na UNICAMP que me proporcionou muitos conhecimentos e me fez ficar mais apaixonada pelos fungos. A professora Liliana por ter me recebido em seu laboratório e as amigas que construí, Caio e Juliana, pela parceria e pela busca incansável por tomates orgânicos.

À todas pessoas que de alguma forma me ajudaram nessa busca para conseguir todas as amostras de tomate para conclusão deste trabalho, sei que não foi fácil e que vocês lembravam de mim toda vez que viam um tomate no mercado.

À Larine pela ajuda desde muito tempo. Obrigada por sanar todas minhas dúvidas, por estar disposta em me ajudar e pelos nossos momentos descontraídos no LAMCA.

À Jaque pelos ensinamentos que vou levar pelo resto da minha vida.

Aos membros da banca, obrigada por aceitarem o convite e pelas contribuições no trabalho.

À minha amiga Camila pelos momentos que dividimos desde o primeiro ano da graduação, obrigada por sempre estar presente em todos estes momentos importantes da minha vida.

À todos os professores que contribuíram para a minha formação e me fizeram amar a ciência.

À CAPES e ao CNPQ pelo financiamento.

*A tarefa não é tanto ver aquilo que ninguém viu,
mas pensar o que ninguém ainda pensou
sobre aquilo que todo mundo vê.”*

(Arthur Schopenhauer)

SUMÁRIO

LISTA DE FIGURAS.....	14
LISTA DE TABELAS.....	16
CAPÍTULO I	18
RESUMO GERAL	20
ABSTRACT	22
1 INTRODUÇÃO GERAL	27
2 OBJETIVOS.....	29
2.1 GERAL	29
2.2 ESPECÍFICOS	29
CAPÍTULO II.....	31
3 REVISÃO DA LITERATURA.....	33
3.1 CARACTERÍSTICAS DO TOMATE E FORMAS DE CULTIVO	33
3.2 CONTAMINAÇÃO FÚNGICA E MICOTOXICOLÓGICA EM TOMATES	36
3.3 COMPOSTOS DE DEFESA E ELICITORES BIOLÓGICOS.....	39
3.3.1 Compostos bioativos.....	40
3.3.2 Compostos fenólicos	42
3.3.3 Outros compostos de defesa	43
CAPÍTULO III	47
ARTIGO I – RELAÇÃO ENTRE NUTRIENTES E COMPOSTOS BIOATIVOS DE VARIEDADES COMERCIAIS DE TOMATE POR ANÁLISE DE COMPONENTES PRINCIPAIS.....	49
1 INTRODUÇÃO.....	51
2 MATERIAL E MÉTODOS	53
2.1 AMOSTRAS DE TOMATE E SUAS PROPRIEDADES FÍSICO-QUÍMICAS.....	53
2.2 COMPOSTOS BIOTIVOS	54
2.3 ATIVIDADE ANTIOXIDANTE	55
2.4 ANÁLISE ESTATÍSTICA	56
3 RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	56
3.1 PROPRIEDADES FÍSICAS E QUÍMICAS DOS TOMATES	56
3.2 PROPRIEDADES FUNCIONAIS DAS AMOSTRAS.....	58
3.3 ATIVIDADE ANTIOXIDANTE	61

3.4 ANÁLISE DE COMPONENTES PRINCIPAIS	62
---	----

4 CONCLUSÃO	64
-------------------	----

5 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	64
------------------------------------	----

ARTIGO II - RASTREABILIDADE DE TOMATES (<i>SOLANUM LYCOPERSICUM</i>) COM BASE EM SEU PERFIL ENZIMÁTICO	69
---	-----------

1 INTRODUÇÃO	71
--------------------	----

2 MATERIAL E MÉTODOS	72
----------------------------	----

2.1 AMOSTRAGEM E PADRONIZAÇÃO DOS FRUTOS	72
--	----

2.2 CARACTERIZAÇÃO QUÍMICA DAS AMOSTRAS	73
---	----

2.3 ATIVIDADE DAS ENZIMAS OXIRREDUTASES, CARBOIDRASES E LIASE	74
---	----

2.3.1 Obtenção dos extratos enzimáticos	74
---	----

2.3.2 Invertase (INV)	74
-----------------------------	----

2.3.3 Poligalacturonase (PG)	75
------------------------------------	----

2.3.4 Peroxidases (PO)	75
------------------------------	----

2.3.5 Polifenoloxidase (PPO)	75
------------------------------------	----

2.3.6 Atividade de Catalase (CAT)	76
---	----

2.3.7 Fenilalanina-amônia-liase (PAL)	76
---	----

2.4 ANÁLISE ESTATÍSTICA	76
-------------------------------	----

3 RESULTADOS E DISCUSSÃO	77
--------------------------------	----

3.1 CARBOIDRATOS E ATIVIDADE DE CARBOIDRASES	77
--	----

3.2 ENZIMAS OXIDO-REDUTASES	81
-----------------------------------	----

3.3 RELAÇÕES ENTRE O COMPORTAMENTO DAS ENZIMAS NAS VARIEDADES DE TOMATE	84
--	----

4 CONCLUSÃO	85
-------------------	----

5 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	85
------------------------------------	----

ARTIGO III – ATIVIDADE ANTIFÚNGICA DE EXTRATOS FENÓLICOS DE TOMATES DE CULTIVO ORGÂNICO E CONVENCIONAL	91
---	-----------

1 INTRODUÇÃO	93
--------------------	----

2 MATERIAL E MÉTODOS	95
----------------------------	----

2.1 AMOSTRAS E COMPOSIÇÃO DOS TOMATES	95
---	----

2.1.1 Determinação de compostos fenólicos	95
---	----

2.1.2 Determinação de aminoácidos	96
---	----

2.2 AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE ANTIFÚNGICA	97
--	----

2.3 DETERMINAÇÃO DA CONCENTRAÇÃO INIBITÓRIA MÍNIMA (DO INGLÊS MINIMAL INHIBITORY CONCENTRATION - MIC) E CONCENTRAÇÃO FUNGICIDA MÍNIMA (DO INGLÊS MINIMAL FUNGICIDE CONCENTRATION -MFC)	98
--	----

2.4 ANÁLISE ESTATÍSTICA	98
3 RESULTADOS E DISCUSSÃO	98
3.1 COMPOSTOS FENÓLICOS	98
3.2 PERFIL DE AMINOÁCIDOS	100
3.3 ATIVIDADE ANTIFÚNGICA, MIC E MFC DOS EXTRATOS FENÓLICOS DE TOMATES DE CULTIVO ORGÂNICO E CONVENCIONAL	102
4 CONCLUSÃO	105
5 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	105
 ARTIGO IV – PATULINA E OCRATOXINA A EM TOMATES PROVENIENTES DE CULTIVO ORGÂNICO, CONVENCIONAL E EM DIFERENTES ETAPAS DA MATURAÇÃO	
111	
1 INTRODUÇÃO	113
2 MATERIAL E MÉTODOS	115
2.1 REAGENTES	115
2.2 AMOSTRAS E SUA CARACTERIZAÇÃO	116
2.3 CONDIÇÕES CROMATOGRÁFICAS	116
2.4 DETERMINAÇÃO DE PAT E OTA	117
2.5 APLICABILIDADE DO MÉTODO	118
2.6 ESTATÍSTICA	118
3 RESULTADOS E DISCUSSÃO	119
3.1 VALIDAÇÃO DO MÉTODO E PERFORMANCE ANALÍTICA	119
3.2 APLICABILIDADE DO MÉTODO	121
3.3 EFEITO DA MATURIDADE NO CONTEÚDO DE PAT	123
4 CONCLUSÃO	124
5 REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS	125
CAPÍTULO IV	129
CONCLUSÃO GERAL	131
CAPÍTULO V	133
RESÍDUOS GERADOS E DESTINO	135
SUGESTÃO PARA TRABALHOS FUTUROS	135
CAPÍTULO VI	137

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	139
APÊNDICE 1.....	157
APÊNDICE 2.....	158
APÊNDICE 3.....	159

LISTA DE FIGURAS

CAPÍTULO II

REVISÃO DA LITERATURA

Figura 1 - Estrutura química da (a) patulina e (b) ocratoxina	38
--	----

CAPÍTULO III

ARTIGO I - ANÁLISE MULTIVARIADA DAS RELAÇÕES ENTRE NUTRIENTES E COMPOSTOS FUNCIONAIS EM VARIEDADES COMERCIAIS DE TOMATE

Figura 1 - Análise de PCA de compostos antioxidantes	63
---	----

Figura 2 - Análise PCA do perfil de compostos fenólicos	64
--	----

ARTIGO II - RASTREABILIDADE DE TOMATES (*solanun lycopersicum*) COM BASE EM SEU PERFIL ENZIMÁTICO

Figura 1 - PCA das atividades enzimáticas considerando variedade e cultivo das amostras de tomate	84
---	----

ARTIGO III – ATIVIDADE ANTIOXIDANTE DE TOMATES DE CULTIVO ORGÂNICO E CONVENCIONAL À CONTAMINAÇÃO POR FUNGOS DO GÊNERO *Aspergillus* E *Penicillium*

Figura 1 - Atividade antifúngica dos extratos fenólicos	103
--	-----

LISTA DE TABELAS

CAPÍTULO II

REVISÃO DA LITERATURA

Tabela 1 - Ocorrência de micotoxinas em diferentes produtos atomatados	37
Tabela 2 - Compostos de defesa e dos elicitores associados a resistência a contaminação fúngica em diferentes alimentos	46

CAPÍTULO III

ARTIGO I - ANÁLISE MULTIVARIADA DAS RELAÇÕES ENTRE NUTRIENTES E COMPOSTOS FUNCIONAIS EM VARIEDADES COMERCIAIS DE TOMATE

Tabela 1 - Índice de maturação e composição química de amostras de tomate	57
Tabela 2 - Compostos fenólicos livres, carotenoides e ácido ascórbico em amostras de tomate	60
Tabela 3 - Perfil de compostos fenólicos de amostras de tomate	61
Tabela 4 - Atividades antioxidantes de extratos fenólicos e carotenoides expressos como IC ₅₀ (µg mL ⁻¹)	62

ARTIGO II - RASTREABILIDADE DE TOMATES (*solanun lycopersicum*) COM BASE EM SEU PERFIL ENZIMÁTICO

Tabela 1 - Perfil de açúcares redutores e atividade da invertase (U mg ⁻¹ de proteína) nas amostras de tomate de cultivo convencional e orgânico	78
Tabela 2 - Conteúdo de pectina e atividade da poligalacturonase (U mg ⁻¹ de proteína) nas amostras de tomates de cultivo convencional e orgânico	80
Tabela 3 - Atividade das enzimas oxirredutases (U mg ⁻¹ proteína) nas amostras de tomates de cultivo convencional e orgânico	81
Tabela 4 - Conteúdo de fenilalanina e atividade da fenilalanina-amônia-liase (U mg ⁻¹ proteína) em tomates de cultivo convencional e orgânico	83

ARTIGO III – ATIVIDADE ANTIOXISANTE DE TOMATES DE CULTIVO ORGÂNICO E CONVENCIONAL À CONTAMINAÇÃO POR FUNGOS DO GÊNERO *Aspergillus* E *Penicillium*

Tabela 1 - Compostos fenólicos solúveis em etanol (mg. g ⁻¹) e o perfil de ácidos fenólicos e flavonoides (µg g ⁻¹) presentes nos tomates de cultivo orgânico e convencional	99
---	----

Tabela 2 - Perfil de aminoácidos presentes nos tomates de cultivo orgânico e convencional	101
--	-----

Tabela 3 - Halo de inibição (cm) dos extratos fenólicos dos tomates de cultivo orgânico e convencional	103
---	-----

Tabela 4 - Concentração mínima inibitória (MIC) e a concentração fungicida mínima (MFC) dos extratos fenólicos	104
---	-----

ARTIGO IV - PATULINA E OCRATOXINA “A” EM TOMATES PROVENIENTES DE CULTIVO ORGÂNICO E CONVENCIONAL E EM DIFERENTES ETAPAS DA MATURAÇÃO

Tabela 1 - Recuperações obtidas pela Extração pela técnica MSPD usando diferentes adsorventes	119
--	-----

Tabela 2 - Parâmetros analíticos para determinação de PAT em HPLC-DA	120
---	-----

Tabela 3 - Conteúdo de OTA e PAT nos tomates convencionais e orgânicos estudados	122
---	-----

Tabela 4 - Conteúdo de OTA e PAT de tomate Caqui em diferentes estádios de maturação	123
---	-----

APÊNDICE 1

Tabela 1 – Correlação linear do PCA da atividade antioxidante	157
--	-----

APÊNDICE 2

Tabela 2 – Correlação linear do PCA dos ácidos fenólicos	158
---	-----

APÊNDICE 3

Tabela 3 – Parâmetros ótimos para atividade das enzimas	159
--	-----

Tabela 4 – Correlação linear do PCA das atividades enzimáticas	159
---	-----

CAPÍTULO I

RESUMO GERAL

O tomate é um fruto popular rico em compostos antioxidantes, porém seu alto teor de carboidratos e umidade o torna sensível à contaminação por diversos patógenos. As principais formas de cultivo do tomate são orgânico e convencional, portanto, a identificação das diferenças do perfil metabólico quanto à variedade e cultivo e sua relação com a contaminação fúngica são importantes ferramentas para inferir sobre o manejo da cultura e sua sustentabilidade ao longo dos diferentes pontos da cadeia alimentar. Os objetivos deste estudo foram avaliar a composição e ocorrência de compostos indicadores de defesa natural de tomates de cultivo orgânico e convencional, com ênfase naqueles relacionados à suscetibilidade à contaminação fúngica, visando subsidiar o manejo das culturas de forma mais sustentável e mitigar os danos à saúde humana. Primeiramente os tomates foram caracterizados quanto à sua composição química, carotenoides, compostos fenólicos, ácido ascórbico, perfil de açúcares, perfil fenólico e aminoacídico e determinação das enzimas de defesas. A partir desta composição o estudo foi conduzido a fim de avaliar as relações entre nutrientes, compostos bioativos e atividade antioxidante de variedades comerciais de tomates; analisar o impacto da variedade e tipo de cultivo (convencional e orgânico) na atividade de enzimas relacionadas aos mecanismos de defesa; verificar o efeito de compostos fenólicos extraídos de tomates de diferentes variedades e cultivo contra cepas de *Penicillium expansum*, *Penicillium verrucosum* e *Aspergillus ochraceus*; validar e aplicar método de determinação de patulina (PAT) e ocratoxina A (OTA) em tomates de cultivo orgânico, convencional e em frutos em diferentes estádios de maturação. Os tomates Cereja destacaram-se pelos teores de pectina (47%), licopeno (34,1 mg. g⁻¹) e pela relação açúcar/acidez. A Análise de Componentes Principais (PCA) mostrou que o potencial antioxidante dos compostos fenólicos está relacionado às concentrações de ácido protocatecoico e quercetina. As atividades das enzimas peroxidase (PO), polifenoloxidase (PPO), catalase (CAT) e fenilalanina-amônia-liase (PAL) mostraram-se úteis para a certificação e rastreabilidade de tomates, uma vez que sua correlação foi superior a 0,9. A análise estatística confirmou que as atividades PO e CAT foram as mais promissoras para encontrar um modelo de resposta ao sistema de cultivo. Os extratos fenólicos dos tomates de cultivo convencional mostraram-se mais eficientes para inibir a contaminação fúngica possivelmente relacionada à presença do ácido cafeico neles. Os aminoácidos prolina e cisteína diferiram em resposta ao manejo da cultura e, portanto, podem ser usadas como marcadores de cultivo. Com relação às micotoxinas, OTA não foi detectada em nenhuma das amostras estudadas e os níveis de PAT foram 70% mais elevados em tomates de cultivo convencional. As amostras de tomate da variedade Cereja apresentaram os maiores teores de acidez e os maiores níveis de PAT, indicando que estes níveis podem estar relacionados entre si. No estágio de maturação vermelho, cuja parede celular estava menos rígida, o tomate Caqui apresentou os maiores níveis de contaminação por PAT, confirmando que a rigidez da parede celular é um fator de proteção contra o patógeno.

Palavras-chave: *Aspergillus*. Compostos fenólicos. Enzimas de defesa. Ocratoxina A. *Penicillium*. Patulina.

ABSTRACT

DEFENSE COMPOUNDS IN ORGANIC AND CONVENTIONAL TOMATOES (*Solanum lycopersicum*) AND THEIR SUSCEPTIBILITY TO FUNGAL AND MYCOTOXICOLOGICAL CONTAMINATION

Tomato is a popular fruit that is rich in antioxidant compounds, however its high carbohydrate and moisture content, make it sensitive to contamination by various pathogens. The main forms of tomato cultivation are organic and conventional, therefore, the identification of the metabolic profile differences regarding variety and cultivation and their relationship with specific fungal susceptibility are important tool to infer about the culture management and its sustainability throughout the different point in food supply chain. The objectives of this study were to evaluate the composition and occurrence of natural defense indicators management system, with emphasis on those related to the susceptibility to fungal contamination, aiming to support the friendly crop management to mitigate the damage to human health. Firstly, comercial tomatoes were characterized about the chemical composition, carotenoids, phenolic compounds, ascorbic acid, sugar profile, phenolic and aminoacidic profile and activity of defense enzymes. The relationships between nutrients, bioactive compounds, the antioxidant and defense enzymes activities were evaluated, by principal components analysis (PCA), considering the varieties and types of growing. Afterwards the minimal inhibitory and fungistatic concentrations of the phenolic compounds extracted from the tomatoes were determined against strains of *Penicillium expansum*, *Penicillium verrucosum* and *Aspergillus ochraceus*. Validate methods were applied to determine the occurrence of patulin (PAT) and ochratoxin A (OTA) in tomatoes growing under organic, conventional systems and different maturation stages. Cherry tomatoes stood out for their content of pectin (47%), lycopene (34,1 mg. g⁻¹) and sugar/acid ratio. The PCA showed that the antioxidant potential of the tomatoes were explained by the phenolic compounds, in special the concentrations of protocatechoic acid and quercetin. The activities of the enzymes peroxidase (PO), polyphenoloxidase (PPO), catalase (CAT) and phenylalanine-ammonia-lyase (PAL) proved to be useful for the certification and traceability of tomatoes, as their correlation with the management of the crop was greater than 0.9. Statistical analysis confirmed that PO and CAT activities were the most promising to find a response model to the management system. Phenolic extracts from conventionally growing tomatoes showed be the better inhibitors against the fungi species and this inhibition could be explained by the presence of caffeic acid. The amino acids proline and cysteine expressed differences related to the cultivation management and, therefore, can be used as culture markers. Regarding mycotoxins, OTA was not detected in any of the studied tomatoes and PAT levels in the samples were 70% higher in conventionally grown tomatoes. Tomato samples of the variety Cherry had the highest acidity levels and the highest PAT levels, indicating that these levels may be related to each other. In the red maturation stage, whose cell wall was less rigid, Persimmon tomato showed the highest levels of PAT contamination, showing that cell wall rigidity is a protective factor against the pathogen.

Keywords: *Aspergillus*. Defense enzymes. Ochratoxin. *Penicillium*. Phenolic compounds. Patulin.

1 INTRODUÇÃO GERAL

O estudo de fatores envolvidos com os mecanismos de defesa de produtos agrícolas tem possibilitado o desenvolvimento de matérias-primas com características mais adequadas ao manejo e produtividade, em geral com acentuada expressão da resistência a exposição de patógenos. Várias estratégias têm sido adotadas, entre elas a manipulação de genes, para posterior transferência à espécie receptora. As principais respostas observadas com o melhoramento genético são o acúmulo de proteínas relacionadas com a resistência a patogenicidade (PR-proteínas), fitoalexinas, compostos fenólicos e proteínas de parede celular (MICHEREFF; BARROS, 2001). Isto torna bastante promissor o uso deste tipo de resistência no controle de doenças de plantas e/ou recuperação destes compostos para aplicação em outros pontos da cadeia produtiva de alimentos como conservadores (MONQUERO, 2005).

O aprofundamento do conhecimento sobre as características químicas e efeitos preventivos aos danos chamaram atenção para o tomate, *Solanum lycopersicum*, pela diversidade de seus componentes bioativos, os quais permitem alegar a sua funcionalidade (GIOVANNETTI et al., 2012; SLIMESTADA; VERHEULB, 2009). O tomate é um fruto muito popular e possui variedades que são cultivadas de acordo com a finalidade de aproveitamento, seja para o consumo *in natura* ou para processamento industrial. Os principais compostos antioxidantes presentes nele são ácido ascórbico, carotenóides, flavonóides e ácidos fenólicos. No Brasil as variedades de tomate mais comercializadas são: Caqui, Cereja, Italiano e Longa Vida em função da sua adaptabilidade as condições climáticas e formas de manejo das culturas (LOPES; ÁVILA, 2005).

O licopeno é o principal carotenoide responsável pela cor vermelha do tomate, juntamente com outros metabólitos da família apresenta capacidade de inativar os radicais livres, confere proteção contra doenças cardiovasculares (KREMER, 2008; RISSANEN; FRANSSILA-KALLUNKI; RISSANEN, 2001) e contra certos tipos de câncer (GIOVANNUCCI et al., 2002). O ácido ascórbico (vitamina C) contribui para a redução do estresse oxidativo e quando ingerido promove a regeneração de mucosas beneficiando a síntese de colágeno (BAHORUN et al., 2004). Os compostos fenólicos no tomate podem ser flavanonas, flavonóis e ácidos fenólicos, conhecidos pelos seus benefícios atribuídos a sua ação antioxidante, anticarcinogênica, propriedades antimicrobianas, antimutagênicas e anti-inflamatórias (SLIMESTAD; FOSSEN; VERHEUL, 2008). Estes compostos constituem um grupo importante de metabólitos secundários que apresentam efeitos inibitórios no crescimento

de fungos e produção de micotoxinas, como tem sido demonstrado em estudos que avaliaram as propriedades antifúngicas deles como alternativa aos fungicidas sintéticos (CHRIST-RIBEIRO et al., 2019; CHRIST-RIBEIRO et al., 2017; HEIDTEMANN-BEMVENUTI et al., 2016).

Entretanto, o alto teor de carboidrato e de umidade, torna o tomate sensível à contaminação por patógenos diversos. Em vista disto, a produção convencional de tomate utiliza elevadas quantidades de agroquímicos como forma de garantir a produtividade. Em vista do risco que esta prática representa tem-se buscado alternativas de produção menos danosas ao consumidor e ao meio ambiente, dentre estas tem-se destacado o cultivo orgânico (KATZ; BARROS, 2016). O cultivo orgânico é caracterizado por não usar pesticidas e fertilizantes sintéticos, é um sistema que adota normas para produzir alimentos mantendo suas características originais e que atendam as expectativas do consumidor. A ausência de tais pesticidas pode implicar na maior exposição da planta a situações estressantes, proporcionando um aumento na produção de substâncias dos mecanismos naturais de defesa, que incluem os compostos fenólicos, enzimas e aminoácidos (CARRILLO et al., 2019).

Nas culturas de tomate os estudos vem sendo principalmente focados para tornar as espécies mais produtivas, resistentes durante o cultivo e com maior aporte de compostos biologicamente ativos (ALFOSEA-SIMÓN et al., 2020; KRISHNA et al., 2021; RADY et al., 2020) e pouco se tem associado estes mecanismos aos riscos micotoxicológicos deste fruto (DONG et al., 2019). Portanto, a identificação destas diferenças de perfil metabólico em variedades de tomates e sua relação com a resistência a contaminantes fúngicos específicos é uma ferramenta importante para inferir sobre a adequação da variedade ao manejo orgânico e sustentabilidade dele ao longo das diferentes etapas da cadeia produtiva de alimentos.

2 OBJETIVOS

2.1 GERAL

Estudar a composição e a ocorrência de compostos indicadores de defesa natural em tomates de cultivo orgânico e convencional, com destaque para aqueles relacionados à susceptibilidade à contaminação fúngica, visando subsidiar o manejo das culturas de forma mais sustentável e mitigar os danos à saúde humana.

2.2 ESPECÍFICOS

- Avaliar as relações entre nutrientes, compostos bioativos e atividade antioxidante de variedades comerciais de tomates a fim de identificar os principais compostos responsáveis pelo seu potencial antioxidante, empregando análise multivariada.

- Determinar o impacto da variedade e tipo de cultivo (convencional e orgânico) na atividade de enzimas relacionadas aos mecanismos de defesa em tomates, visando detectar potenciais marcadores de manejo para rastreabilidade dos frutos.

- Verificar o efeito de compostos fenólicos extraídos de tomates de diferentes variedades e cultivo contra cepas de *Penicillium expansum*, *Penicillium verrucosum* e *Aspergillus ochraceus* para identificar o efeito do manejo no potencial antifúngico dos frutos.

- Validar e aplicar método para determinar a ocorrência de patulina e ocratoxina A em tomates de cultivo orgânico, convencional e em diferentes estádios de maturação.

CAPÍTULO II

3 REVISÃO DA LITERATURA

3.1 CARACTERÍSTICAS DO TOMATE E FORMAS DE CULTIVO

O tomate, *Solanum lycopersicum*, é um fruto muito popular e consumido *in natura* ou processado, possui em sua composição de 93% a 95% de água, e o restante dos componentes são compostos inorgânicos, ácidos orgânicos, açúcares e sólidos solúveis (STINCO et al., 2017). É considerado um alimento funcional, pois contém compostos bioativos, principalmente moléculas com poder antioxidante (DAVIS; FISH; PERKINS-VEAZIE, 2003).

O fruto é produzido em todo o mundo, com tecnologias cada vez mais eficientes em termos de produtividade e vida útil para consumo e comercialização (LANA et al., 2006). A FAO (Organização das Nações Unidas para Agricultura e Alimentação) registrou produção de tomate no ano de 2016 em 175 países, inclusive em regiões de altas latitudes como Canadá e Rússia. O maior produtor mundial foi a China com uma área cultivada de mais de um milhão de hectares e uma produção anual de mais de 56 milhões de toneladas. Segundo IBGE (2021), o Brasil produziu 3,8 milhões de toneladas de tomate em 2020 e 4,1 milhões de toneladas em 2019, indicando uma diminuição de 7 % comparado ao ano anterior. Esta diminuição na produção de tomate pode estar associada às variações climáticas menos definidas e com as variações drásticas de temperatura e umidade que foram observadas em diferentes regiões brasileiras.

Por suas origens, no Brasil o tomateiro cresce bem em condições de clima tropical e subtropical, fresco e seco, com bastante luminosidade (DUSI et al., 1993). Com base nessas referências climáticas, pode-se dizer que a melhor época de plantio do tomateiro é aquela em que as temperaturas médias variam entre de 18 a 25 °C, baixa umidade relativa do ar (30%) e baixo índice de chuvas (800 mm) por um período de 5 a 6 meses consecutivos. Em vista de suas características agrônômicas, as principais variedades de tomates produzidos no Brasil são rotineiramente conhecidas como: Caqui, Cereja, Italiano e Longa Vida.

Os tomates do grupo salada ou Caqui possuem frutos arredondados, achatados no ápice e na base e peso médio variando de 200 a 400 g (DUSI et al., 1993). Os frutos da variedade Cereja se caracterizam por apresentar tamanho de 2 a 3 cm de diâmetro, alto valor nutricional em comparação aos outros (FIGÀS et al., 2015), sabor mais doce (KLEE; GIOVANNONI, 2011; TAYLOR et al., 2006) e período maior de conservação (RAFFO et al., 2002). Os tomates da variedade Italiano são frutos alongados e de peso médio entre 70 e 200 g cujas características morfológicas o tornam adequado para o mercado de alimentos frescos ou para fins de processamento sendo o líder na indústria de conservas (BALBI et al., 2008). Os tomates da

variedade Longa Vida são frutos arredondados, achatados no ápice e na base, de peso médio entre 70 e 200 g que foram desenvolvidos para o consumo *in natura*. A variedade foi obtida por meio da seleção de alelos favoráveis, que fornecem uma maior firmeza ao pericarpo, e pela utilização de mutante de amadurecimento (*rin*, *nor* e *alc*), que promove uma estabilidade pós-colheita prolongada (VECCHIA; KOCH, 2017).

A classificação em grupos é feita de acordo com o seu formato, sua coloração, classes ou calibre conforme o tamanho do fruto e tipos ou graus de seleção ou categorias de acordo com a qualidade do fruto (BRASIL, 2008). Conforme seu tamanho, os grupos são: oblongo, quando o diâmetro longitudinal for maior que o transversal e redondo, quando o diâmetro longitudinal for menor ou igual ao transversal. Em relação a coloração são definidos como: verde maduro, quando se evidencia o início de amarelecimento na região apical do fruto; pintado, quando as cores amarelas, rosa ou vermelho encontram-se entre 10 (dez) e 30 (trinta) por cento da superfície do fruto; rosado, quando 30 % a 60 % do fruto encontra-se vermelho; vermelho, quando o fruto apresenta entre 60 e 90 % da sua superfície vermelha e vermelho maduro, quando mais de 90 % da superfície do fruto encontra-se vermelha.

A qualidade de frutos de tomate está definida com base na aparência, consistência, diâmetro transversal ausência de deformidades e outros atributos sensoriais. Mesmo que algumas deformidades afetem o valor comercial dos tomates nem sempre causam a redução do valor nutritivo e da qualidade comestível do produto (VILELA et al., 2003).

Os defeitos dos tomates podem ser de origem fisiológica, entomológica, patológica e mecânica. Defeitos fisiológicos decorrem de anomalias hereditárias ou de variáveis abióticas desfavoráveis durante a fase de crescimento e maturação. Os defeitos entomológicos são causados por insetos cujos efeitos podem ser diretos ou indiretos, propiciando a entrada de patógenos e outras pragas. A ação de bactérias, fungos, leveduras ou vírus, promovem lesão, descoloração e podridão são denominados defeitos patológicos. O manuseio inadequado resulta em defeitos mecânicos, como amassamento, corte ou machucadura que por sua vez tornam os frutos mais susceptíveis a ação microbiana e a degradação endógena também (CHITARRA & CHITARRA, 2005; CASTRO et al., 2001).

O cultivo convencional de tomates em escala comercial requer medidas técnicas especiais, pois o fruto e a planta são susceptíveis a várias pragas e doenças, o que leva o uso abusivo de pesticidas. Uma tendência para tornar este fruto menos perigoso é o manejo da cultura de tomates conforme os protocolos da agricultura orgânica, que não permite o uso de pesticidas e de organismos geneticamente modificados, empregando práticas que não comprometam a qualidade do solo ou que provoquem sua perda por processos erosivos

(BRASIL, 2003). O fruto proveniente destes cuidados pode levar a alegação de ‘tomate orgânico’ e para isto precisa receber selo de certificação concedido pelo Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento do Brasil (MAPA). As variedades certificadas no Brasil e encontradas comercialmente são Caqui, Cereja e Italiano.

A maioria dos estudos que pretendem demonstrar a vantagem deste tipo de cultivo empregam a comparação da composição química em função do cultivo convencional e orgânico. No entanto, vários fatores além do tipo de cultivo podem afetar para a composição química dos macros componentes limitando a aplicabilidade deste critério para definir sobre o efeito do manejo em todas as variedades cultiváveis de tomate. Outro ponto importante, que chama a atenção para a proposta que alega vantagens no produto do cultivo orgânico é a inconsistência de resultados, frequentemente atribuída a fatores básicos, como cultivar, tempo de pós-colheita, temperatura de armazenamento, composição do solo, tipo de fertilizante, fatores climáticos, entre outros (PACHECO et al., 2017). Em qualquer tipo de manejo de culturas a qualidade dos vegetais comestíveis, em especial em algumas porções, depende da interação entre essas variáveis durante o ciclo de produção (MAGGIO et al., 2013; ROSATI et al., 2014). Um sistema ideal seria aquele aonde todas essas variáveis pudessem ser controladas para fornecer evidências teóricas e práticas sobre o manejo agrícola e seus efeitos sobre a qualidade do fruto ou outra porção comestível.

Outro foco das pesquisas referentes a tomates cultivados sob o sistema orgânico tem consistido em relacionar a ausência de pesticidas com maior conteúdo de compostos fenólicos e outros compostos biologicamente ativos (HEIMLER; ROMANI; IERI, 2017; ORSINI et al., 2016). Hallmann (2012) observou maiores teores de polifenóis e vitamina C sob agricultura orgânica. Em um estudo posterior para analisar o perfil de ácidos fenólicos, apenas o teor de ácido clorogênico foi maior nos frutos da agricultura orgânica (HALLMANN; REMBIAL KOWSKA, 2012). No caso de carotenoides os resultados são contraditórios, Caris-Veyrat et al. (2004) obtiveram maiores concentrações de carotenoide sob agricultura orgânica. Riahi et al. (2009) não encontraram nenhum efeito explicável pelo sistema de cultivo e Rossi et al. (2008) observaram que apenas o conteúdo de licopeno era inferior na agricultura orgânica. Por outro lado, Vinha et al. (2014) encontraram licopeno superior, vitamina C, compostos fenólicos totais e flavonoides na agricultura orgânica.

Influências ambientais na capacidade antioxidante também foram avaliados quanto as propriedades nutricionais, um estudo comparativo envolvendo tomates de cultivo orgânico e convencional mostrou que tomates orgânicos eram mais ricos em nutrientes que promovem a saúde humana do que aqueles produzidos convencionalmente, com maior conteúdo de

fitoquímicos e atividade antioxidante (VINHA et al., 2014). Além disso, sob condições controladas e com boas práticas de gestão, o rendimento de tomates em sistema orgânico é semelhante ao convencional (SEUFERT; RAMANKUTTY; FOLEY, 2012).

Estes estudos demonstram a necessidade de mais pesquisas focadas em comparar os sistemas de cultivo orgânico e convencional em culturas comerciais para obter conclusões claras sobre o efeito do manejo no acúmulo de compostos bioativos e na qualidade do fruto.

3.2 CONTAMINAÇÃO FÚNGICA E MICOTOXICOLÓGICA EM TOMATES

Uma grande variedade de doenças fúngicas afetam o tomate, algumas das quais são consideradas como grande ameaça à produção, como a pinta preta, causada por *Alternaria* spp. e a requeima, causada por *Phytophthora infestans*, enquanto outras como a podridão de *Phoma*, são consideradas de menor relevância (COLMÁN et al., 2018). Perre et al. (2015) também demonstraram que *Penicillium*, *Aspergillus*, *Fusarium* e *Alternaria* estavam presentes em tomates.

A *Alternaria* spp produz mais de setenta metabólitos secundários, alguns deles são conhecidos por atuar como micotoxinas. Segundo a Autoridade Europeia para Segurança de Alimentos (EFSA) as principais toxinas de *Alternaria* são alternariol (AOH), alternariol éter monimetílico (AME), tentoxina (TeA) e ácido tenuazônico (TEN). A TeA foi relatada como a principal micotoxina encontrada em tomates e seus produtos, como sopa de tomate, polpa, molhos e sucos, em tomates secos, em ketchup e em tomates frescos (EFSA et al., 2016). Berardis et al. (2018) encontraram resultados semelhantes aos relatados pelo EFSA, em produtos à base de tomates, embora os valores fossem abaixo dos LODs para AOH, AME e TEM. Confirmando os resultados informados pela literatura a TeA foi a única micotoxina encontrada nos produtos. Em contrapartida, Ángel et al. (2012) detectaram a presença de AOH e AME em tomates cru e processados.

Fungos do gênero *Penicillium* ocorrem frequentemente em frutas e vegetais. *Penicillium expansum* tem sido predominantemente associado à contaminação por patulina em pré e pós-colheita de maçãs (HELL et al., 2009). Patulina (PAT) é a micotoxina mais frequentemente encontrada como um contaminante natural de maçãs e seus produtos, o que torna a maçã passível de regulamentação quanto aos níveis de PAT aceitáveis. No entanto, esta micotoxina tem sido também detectada em outras frutas como o tomate (IQBAL et al., 2018; RYCHLIK; SCHIEBERLE, 2001; SARUBBI et al., 2016). Cunha et al. (2014), encontraram fungos do gênero *Penicillium*, *Alternaria*, *Rhizopus*, *Cladosporium*, *Mucor* e *Botrytis* em

tomates. Neste estudo a patulina foi encontrada em 37 % das frutas, em níveis de 3,22 a 47,7 mg.kg⁻¹. Sarubbi et al. (2016) mostraram que alimentos para bebê contendo molho de tomate apresentaram 5,23 ng mL⁻¹ de PAT.

O processamento e a embalagem podem ter efeito sobre os fungos e níveis de produção de toxinas, o que foi confirmado por Dong et al. (2019) ao demonstrarem que as micotoxinas AOH e AME foram encontradas em morangos e que TeA foi encontrada em tomates armazenados por longo período, mas que nenhuma das micotoxinas havia sido detectada nas frutas frescas. Na Tabela 1 está descrita a ocorrência de micotoxinas em diferentes produtos de tomate e seu respectivo fungo produtor.

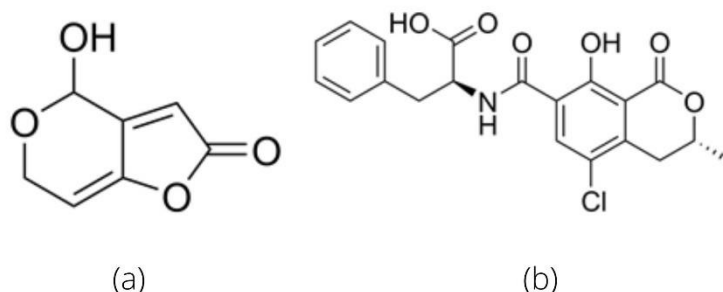
Tabela 1 - Ocorrência de micotoxinas em diferentes produtos atomatados

Produto	Fungo	Micotoxina	Ocorrência	Referência
Ketchup	<i>A. alternata</i>	ALT	21,3 µg kg ⁻¹	PAVON et al. (2012)
Tomate seco	<i>A. alternata</i>	ALT	280 µg kg ⁻¹	PAVON et al. (2012)
		AOH	376 µg kg ⁻¹	PAVON et al. (2012)
		AME	72 µg kg ⁻¹	PAVON et al. (2012)
		ALT	20 µg kg ⁻¹	PAVON et al. (2012)
Molho de tomate	<i>A. alternata</i>	ALT	20 µg kg ⁻¹	PAVON et al. (2012)
Tomate	<i>P. expansum</i>	PAT	n.d	CUNHA et al. (2014)
Tomate (orgânico)	<i>P. expansum</i>	PAT	n.d	CUNHA et al. (2014)
Polpa de tomate	<i>P. expansum</i>	PAT	7,6 µg kg ⁻¹	CUNHA et al. (2014)
Polpa de tomate (orgânico)	<i>P. expansum</i>	PAT	13,1 µg kg ⁻¹	CUNHA et al. (2014)
Suco de tomate	<i>P. expansum</i>	PAT	n.d	CUNHA et al. (2014)
Geleia de tomate	<i>P. expansum</i>	PAT	n.d	CUNHA et al. (2014)
Smoothie	<i>P. expansum</i>	PAT	n.d	IQBAL et al. (2018)
Tomate fresco	<i>P. expansum</i>	PAT	>50 µg kg ⁻¹	IQBAL et al. (2018)
Tomate fresco	<i>P. expansum</i>	PAT	45 µg kg ⁻¹	RYCHILIK et al. (2001)

n.d – não detectado. ALT – Altenueno, AOH – Alternariol, AME - alternariol éter monimetílico, PAT – Patulina.

A patulina (Figura 1a) demonstrou ter efeito tóxico agudo, genotóxico, teratogênico e possivelmente imunotóxico em animais, embora sua toxicidade em humanos não tenha sido relatada de forma conclusiva e os efeitos de exposição a longo prazo ainda são desconhecidos, limitar sua concentração nos alimentos é tomado como medida de precaução (CUNHA et al., 2014). A ANVISA (2011) estabeleceu os limites máximos toleráveis (LMT) de ingestão de patulina em suco de maçã, entretanto, não estão estabelecidas legislações específicas para a presença de micotoxinas em tomates ou outros frutos o que torna bastante promissor os estudos que relatam o levantamento de ocorrência de micotoxinas em tomates e seus produtos, para que seja possível estabelecer estratégias para prevenir ou mitigar os efeitos de exposição a contaminantes a partir desta fonte.

Figura 1 - Estrutura química da (a) patulina e (b) ocratoxina.



A ocratoxina A (Figura 1b) pode ser produzida por certas espécies de *Aspergillus* e *Penicillium* com destaque para o *Penicillium verrucosum* e *Aspergillus ochraceus* (GEISEN et al., 2018). É encontrada em várias fontes, como cereais, rações, bebidas e frutas, no entanto para tomates ainda não existem relatos de sua ocorrência. Com relação aos efeitos tóxicos, a ocratoxina A pode causar dano oxidativo, aumento da peroxidação lipídica, distúrbios de homeostase do cálcio, comprometimento da oxidação mitocondrial e indução de apoptose em vários tipos de células (GALLO; FERRARA; PERRONE, 2017). Considerando os efeitos nocivos causados pela ingestão desta toxina, níveis máximos toleráveis foram estabelecidos para diferentes produtos alimentares, variando de 0,5 a 10 mg kg⁻¹ (GEISEN et al., 2018).

Devido à alta toxicidade de patulina e ocratoxina o desenvolvimento de métodos analíticos confiáveis e sensíveis é de vital importância no controle efetivo de contaminação, os métodos mais utilizados são cromatografia de camada fina (TLC, do inglês thinlayer chromatography), cromatografia gasosa acoplada ao espectrômetro de massas (GC-MS, do inglês gas chromatography mass spectrophotometer), cromatografia líquida com detecção ultravioleta (HPLC-UV, do inglês high performance liquid chromatography), cromatografia líquida acoplada ao espectrômetro de massas (HPLC-MS), eletroforese capilar (CE, do inglês Capillary Electrophoresis), ensaio de quimiluminescência, técnicas de redução eletroquímica, entre outras (LI et al., 2017b; SHAHBAZI; SHAVISI, 2019).

No que se refere a contaminação fúngica em tomates os estudos tem também dado mais ênfase as espécies que causam podridão aparente (COLMÁN et al., 2018) e menos as espécies menos agressivas sobre a morfologia, mas produtoras de micotoxinas. Alguns estudos demonstraram que fungos das espécies toxigênicas de *Penicillium*, *Fusarium* e *Aspergillus* são capazes de usar o fruto do tomate para seu desenvolvimento e há também evidências da manifestação do seu potencial toxigênico (PERRE et al., 2015).

Wang et al. (2019) partiram deste princípio e avaliaram a atividade antifúngica contra seis tipos de fungos fitopatogênicos, *Phomopsis adianticola*, *Fusarium graminearum*, *Alternaria tenuis* Nees, *Magnaporthe oryzae*, *Gloeosporium theae-sinensis* e *Sclerotinia sclerotiorum*. Os autores concluíram que as moléculas testadas possuíam efeito antifúngico.

Considerando a importância do tomate como fonte de nutrientes e compostos funcionais; o potencial de mecanismos de defesa a serem estimulados pelo manejo das culturas e o risco da presença de fungos menos ativos para desencadear a podridão aparente torna clara a necessidade de uma condução abrangente de avaliação de ocorrência de micotoxinas em tomates e seus produtos, bem como as causas da contaminação. O incentivo a pesquisas que visem a utilização de compostos de defesa e mesmo de manejo sustentável para propiciar a manifestação do potencial intrínseco dos frutos são estratégias fundamentais para como uma alternativa para produção de alimentos à base de tomate mais seguros.

3.3 COMPOSTOS DE DEFESA E ELICITORES BIOLÓGICOS

São muitos os possíveis mecanismos de defesa presentes em plantas, mas em tomates este potencial tem sido pouco explorado apesar do conhecimento de sua importância como fonte de compostos funcionais na dieta (RODRIGUES et al., 2021). O maior enfoque tem sido em aumentar a produtividade e evitar as doenças que afetam o aspecto do fruto e o torna menos atrativo para consumo *in natura*. O uso intensivo de pesticidas para evitar patógenos poderia ser mitigado com o maior conhecimento destes mecanismos de defesa especificamente neste fruto e suas respostas aos tratamentos com elicitores e outros menos agressivos ao meio ambiente (ABOURAÏCHA et al., 2015).

Apesar destes conhecimentos as perdas de frutos durante o cultivo, armazenamento e o manuseio pós-colheita decorrentes da infecção por patógenos é um dos principais desafios na cadeia produtiva de frutos com impacto global. Explorar aspectos que envolvem a interação fruta-patógeno é importante para auxiliar no desenvolvimento de métodos alternativos para o controle de doenças, de forma sustentável ao ambiente e a saúde humana.

Essas defesas são complexas e constituem uma série de barreiras estruturais e bioquímicas, as quais são denominadas de Resistência Constitutiva ou Resistência Induzida (TIAN et al., 2015). A contaminação por patógenos é favorecida quando o vegetal passa por condições de estresse abióticos como sal, seca, excesso ou deficiência de nutrientes desencadeia a Resistência Induzida (RAJPUT et al., 2013).

A Resistência Constitutiva é principalmente dependente de barreiras físicas e químicas, como as paredes celulares, cutículas cerosas e casca cuja integridade é fundamental para a proteção eficiente, defesa natural que o fruto possui (SHARMA, 2019). Após a infecção no fruto são ativados uma série de sinais sistêmicos que desencadeiam as respostas de defesa específicas contra o patógeno, protegendo assim o resto de seus tecidos, são as chamadas Resistência Sistêmica Adquirida (SAR) que será ativada pelo hormônio ácido salicílico (AS) e a Resistência Sistêmica Induzida (ISR) pelo hormônio ácido jasmônico (AJ) (POVEDA, 2020).

A maturidade é outro fator importante para a resistência de frutas que deve ser considerado. Alguns estudos demonstram que dependendo do estágio de maturação, alguns patógenos são capazes de superar as defesas das frutas e produzir infecções, portanto, a maturidade do fruto desempenha um papel importante para prevenir o desenvolvimento de doenças pós-colheita (VILANOVA et al., 2012). Várias espécies de patógenos pós-colheita, como *Colletotrichum*, *Alternaria*, *Botrytis* e *Monilinia*, permanecem latentes em seus hospedeiros até que o fruto amadureça e podem se manifestar ou não dependendo de uma série de variáveis. (TIAN et al., 2015).

Os elicitores biológicos são moléculas capazes de aumentar a capacidade defensiva dos vegetais ativando a resposta sistêmica. Eles podem ser provenientes de uso de micro-organismos antagonistas de patógenos, irradiação UV, tratamento térmico, fitohormônios, ozônio, água, entre outros (POVEDA, 2020). A melhora da resistência envolve aumento nas atividades das enzimas relacionadas à defesa, modulação de espécies reativas de oxigênio e consequentemente o aumento nos compostos de defesa (ABOURAÏCHA et al., 2015).

Este conhecimento norteou a tendência em desenvolver novas estratégias de proteção, pelo estímulo das reações de defesa utilizando produtos naturais e elicitores biológicos (DIXON, 2001).

3.3.1 Compostos bioativos

Os compostos bioativos são aqueles que além de sua função no tecido de origem são benéficos para a saúde humana prevenindo diversas doenças. Nesta classe estão algumas famílias químicas sintetizadas no metabolismo secundário das plantas que as tornam menos susceptíveis aos efeitos do ambiente, por isso em geral os compostos considerados bioativos são parte dos mecanismos de defesa dos tecidos vegetais (PEANPARKDEE; IWAMOTO, 2019). Estes incluem os compostos fenólicos, carotenoides, além de outros. Algumas famílias químicas de compostos bioativos fazem parte do metabolismo primário que também tem papel

marcante nos mecanismos de defesa, são eles os ácidos graxos essenciais e vitaminas solúveis (BAZANA; CODEVILLA; DE MENEZES, 2019).

O principal desafio com relação a estes compostos é recuperá-los de suas matrizes originais, preservá-los durante o processamento e preparo de alimentos. Outro desafio é o fato que pelo seu papel protetor eles são mais abundantes nas porções externas do órgão vegetal, que em geral são descartados. Sendo assim aplicar estas porções na indústria alimentícia e farmacêutica, sem que ocorram perdas das propriedades biológicas destas moléculas, é uma demanda importante para a sustentabilidade das culturas e até da preservação da saúde humana. Esta recuperação é também interessante para conferir valor aqueles frutos fora de padrão de qualidade, encaminhando-os para processos adequados, ou aproveitamento do resíduo da agroindústria.

Dentre as propriedades destes compostos classificados como bioativos a mais estudada é a atividade antioxidante que possuem algumas substâncias deste grupo que são capazes de inibir ou retardar a oxidação de outras, mesmo quando presente em baixas concentrações em relação ao material susceptível a oxidação (BORGUINI; DA SILVA TORRES, 2009). A inibição contra danos oxidativos pode mitigar o estresse promovido por condições bióticas e abióticas, protegendo o tecido do ataque de patógenos e evitando a síntese de micotoxinas pelos fungos contaminantes, que são inevitáveis. Silva; Souza e Badiale-Furlong (2020) observaram que os ácidos siríngico, p-cumárico, p-hidroxibenzoico e vanilina estão correlacionados com o mecanismo antioxidante e capaz de fornecer uma defesa contra fungos e produção de aflatoxinas.

A importância de prevenir processos oxidativos *in vivo* e em produtos diversos fez com que fosse empregado um critério de classificação destes compostos que considera a sua origem em duas categorias: antioxidantes sintéticos e naturais. Tanto numa classe como na outra, a eficiência e aplicabilidade deles como conservadores, leva em consideração a solubilidade, capacidade de regeneração, relação estrutura/atividade e biodisponibilidade, para a recomendação funcional deles (KAUR; KAPOOR, 2001). A busca por compostos naturais com esta capacidade tem norteado muitos estudos com enfoques distintos, pois estes são menos danosos a saúde e ao meio ambiente (ABD EL-FATTAH et al., 2017; LIU et al., 2019; MARTÍNEZ-BALLESTA et al., 2018). Além disso, conhecer seu potencial de proteção ao tecido permite inferir sobre a vida útil dele para aplicação segura na alimentação.

Entre as fontes de compostos antioxidantes naturais está o tomate, sendo que o tipo e a quantidade dessas substâncias depende de fatores como cultivar e maturação da fruta, mas também inclui condições agrônômicas e ambientais durante o cultivo (VALLVERDÚ-

QUERALT et al., 2012). O genótipo é o fator relevante para determinar quais os compostos antioxidantes estarão presentes numa determinada variedade (ABUSHITA; DAOOD; BIACS, 2000; GEORGE et al., 2004; LEONARDI et al., 2000).

Os compostos presentes no tomate, aos quais se atribui propriedades antioxidantes, são os carotenoides, compostos fenólicos, ácido ascórbico (vitamina C) e tocoferóis. O licopeno é o principal carotenoide responsável pela cor vermelha do tomate, juntamente com outros metabólitos da família apresenta capacidade de inativar os radicais livres, confere proteção contra doenças cardiovasculares (KREMER, 2008; RISSANEN; FRANSSILA-KALLUNKI; RISSANEN, 2001) e contra certos tipos de câncer (GIOVANNUCCI et al., 2002). Não foram encontrados relatos sobre o seu papel antimicrobiano. O ácido ascórbico (vitamina C) contribui para a redução do estresse oxidativo e promove a regeneração de mucosas beneficiando a síntese de colágeno (BAHORUN et al., 2004). Os compostos fenólicos no tomate podem ser flavanonas, flavonóis e ácidos fenólicos conhecidos pelos seus benefícios atribuídos a sua ação antioxidante, anticarcinogênica, propriedades antimicrobianas, antimutagênicas e anti-inflamatórias (SLIMESTAD; FOSSEN; VERHEUL, 2008). Poucos estudos neste fruto têm sido conduzidos para avaliar o papel antimicrobiano deles, embora outros estudos tenham demonstrado este efeito (CHRIST-RIBEIRO et al., 2019; DENARDI-SOUZA et al., 2018a; SCAGLIONI et al., 2019a).

3.3.2 Compostos fenólicos

Dentre os mecanismos utilizados pelas plantas, dois são essenciais para proteção contra danos causados por fungos, a inibição de enzimas fúngicas e a inibição de processos oxidativos, destacando-se que os compostos fenólicos podem atuar como inibidores nas duas vias. Eles são metabólitos secundários de plantas que são distribuídos em diferentes famílias químicas, tais como: flavonoides, isoflavonoides, estilbenos, monolignóis e lignanas. Eles atuam como fitoalexinas induzíveis ou fitoanticipinas pré formadoras em muitas espécies de vegetais. O polímero de fenilpropanoide lignina, é uma barreira física induzível contra a entrada de patógenos (DIXON, 2001).

Altos níveis de compostos fenólicos no local da invasão do patógeno podem restringir ou retardar o crescimento dele (EL MODAFAR et al., 2012). Abouraïcha et al. (2015) relataram que os níveis de lignina e compostos fenólicos foram bastante melhorados em maçãs tratadas as 24 e 48 h após a elicitação com extratos de algas marinhas. Valentines et al. (2005)

encontraram maiores teores de lignina em maçãs mais resistentes a infecção por *Penicillium expansum*, o que destaca o papel proeminente da lignina nas respostas de defesa.

A atuação dos compostos fenólicos como inibidores da manifestação fúngica em diversos alimentos bem como a sua capacidade em retardar ou impedir a formação de micotoxinas tem sido bastante estudada (CHRIST-RIBEIRO et al., 2019; HEIDTEMANN-BEMVENUTI et al., 2016; SCAGLIONI et al., 2018). O potencial antifúngico e inibidor de toxinas de *Fusarium* foi demonstrado em extratos fenólicos de sementes de neem e farelo de arroz, indicados pelo retardamento na produção de nivalenol e 100 % de inibição de zearalenona (HEIDTEMANN-BEMVENUTI et al., 2016), extratos de microalgas *Nannochloropsis sp.* e *Spirulina sp.*, cujo nível de inibição foi de 70 % no período de 96 h (SCAGLIONI et al., 2019b).

Portanto, além de atuarem como compostos defesas, os compostos fenólicos recuperados de matérias primas ou resíduos agroindustriais podem ser uma nova opção para prevenir a deterioração de alimentos por contaminação fúngica, atuando como um substituinte à conservantes químicos, por seu potencial antifúngico. Christ-Ribeiro et al. (2019) compararam os efeitos de compostos fenólicos extraídos de *Spirulina sp.* e de biomassa de farelo de arroz produzido por *Rhizopus oryzae* e conservante químico propionato de cálcio, a fim de investigar a ação citotóxica, antifúngica e antimicotoxigênica destes extratos. Ficou demonstrado que os compostos fenólicos são uma fonte promissora de conservante para uso em produto alimentício. Eles não são citotóxicos e se mostraram antifúngicos mais eficientes e inibidores de micotoxinas do que o propionato de cálcio. Estes achados sugerem que seria interessante explorar conservantes naturais para prevenir a infecção de alimentos por fungos e suas micotoxinas na cadeia alimentar.

3.3.3 Outros compostos de defesa

Além dos compostos fenólicos outros também estão relacionados com o mecanismo de defesa das plantas contra patógenos diversos. Destacam-se as classes químicas das fitoalexinas, aminoácidos e as enzimas de defesa.

As fitoalexinas podem ser sintetizadas quando ocorre o ataque de patógenos e se acumulam no local de infecção, Müller e Börger (1940) estudando a resistência de batatas à *Phytophthora infestans*, propuseram pela primeira vez o termo fitoalexina. A primeira fitoalexina isolada foi a pisatina, obtida a partir de ervilhas inoculada com o fungo *Sclerotinea fructicola* (CRUICKSHANK; PERRIN, 1960). Essas substâncias englobam vários grupos de compostos naturais como terpenoides, isoflavonoides, flavonoides, estilbenos, cumarinas, isocumarinas,

poliacetilenos e polienos, todas as fitoalexinas são metabolitos secundários derivados da via dos fenilpropanoides (BRAGA; DIETRICH, 1987). Kumar et al. (2015) encontraram um acúmulo de fitoalexinas em cultivares de cana-de-açúcar inoculadas com esporos de *C. falcatum*, indicando seu provável papel no mecanismo de defesa. Foram identificados quatro compostos de fitoalexinas, 3-desoxianocianidina, arabinosil 5-o- apigeninidina, luteolinidina e 5-metoxi luteolinidina neste estudo.

Para se adaptarem às condições de estresse um dos mecanismos que as plantas utilizam é a síntese de aminoácidos como prolina, glicina, glutamato, L-triptofano, cisteína. A prolina está envolvida em processos de ajuste osmótico desativando as espécies reativas de oxigênio (ROS) (IQBAL; NAZAR, 2015). A metionina por meio da rota S-adenosil-metionina, regula a síntese de metabólitos secundários, poliaminas e etileno, e junto com um grupo amina ajudam as plantas a resistir ao estresse abiótico (CAPALDI et al., 2015). A arginina é o aminoácido precursor de poliaminas e óxido nítrico, portanto, também possui papel importante na regulação dos processos de desenvolvimento, bem como respostas ao estresse biótico e abiótico (WINTER et al., 2015). O L-triptofano pode atuar como um osmólito ou regulador de transporte de íons, modulando a abertura osmótica e diminuindo efeitos nocivos dos metais pesados (HILDEBRANDT et al., 2015). Chang et al. (2010) relataram que a aplicação exógena de glutamato desempenhou um papel regulador na germinação de sementes de pepino sobre estresse salino. No controle de doenças fúngicas, Kadotani et al. (2016) demonstraram que a aplicação de glutamato induz a resistência a folhas de arroz pela via do ácido salicílico. Jin et al. (2019) investigaram o papel de glutamato exógeno na inibição da podridão causada por *Penicillium expansum* em pêras, os resultados mostraram que a faixa de concentração entre 1,0 a 10 mM são suficientes para suprir a deterioração provocada pelo *Penicillium expansum*. Não foram encontrados estudos com esta característica em tomates.

As enzimas catalase (CAT), peroxidase (PO), superóxido dimutase (SOD), glutathione redutase (GLU) e polifenoloxidase (PPO) são protetoras antioxidantes que estão associadas a resistência de plantas (ZHENG et al., 2017). Quando as plantas sofrem algum estresse biótico ou abiótico são produzidas espécies reativas de oxigênios (ROS), regulando o sistema e acarretando no aumento da atividade de enzimas antioxidantes (PAN et al., 2020).

A PO é a enzima chave na fase final da biossíntese de lignina, catalisando a polimerização de lignóis monoméricos em lignina, para consolidar a estrutura celular (ZHANG et al., 2011). PPO oxida fenóis em quininas fungitóxicas que podem inibir diretamente o crescimento de patógenos (GE et al., 2017). GLU executa seu papel antifúngico hidrolisando β -1,3-glucanos, que são os constituintes da parede celular do fungo (WANG et al., 2011). A

fenilalanina-amônia-liase (PAL) é uma enzima também muito importante no mecanismo de resistência, pois está envolvida em várias vias metabólicas, incluindo a fenilpropanoide, da qual são sintetizados os compostos fenólicos, fitoalexinas e lignina (ABOURAÏCHA et al., 2015).

Diversos estudos estão direcionados no uso de elicitores como um meio de proporcionar a ativação destas enzimas (ABOURAÏCHA et al., 2015; PAN et al., 2020; SHADLE et al., 2003; ZHENG et al., 2017). Em uma pesquisa desenvolvida por Esmaily: Bandani (2015) foi observado um aumento nas atividades de PO e PPO em melões em resposta à infecção por *Fusarium oxysporum* sem o uso de elicitores. Também no caso deste mecanismo de defesa, os estudos tendo tomates como foco ainda são escassos.

A produção de tomate é considerada de alto risco devido à suscetibilidade ao estresse fisiológico e ao ataque de pragas e doenças, acarretando a um alto investimento de recursos financeiros para controle da cadeia produtiva. A modificação genética é considerada a alternativa mais promissora para cultivo de tomates mais resistentes e adaptáveis ao frio, falta de água, salinidade, temperatura extrema. Krishna et al. (2021) desenvolveram um tomate duplo transgênico proveniente do cruzamento de dois tomates transgênicos individuais expressando nAtDREB1A e BcZAT12 para ver o efeito sinérgico de ambos os genes e analisar a tolerância à seca sob condição de déficit hídrico, seus resultados confirmam que a superexpressão combinada de AtDREB1A e BcZAT12 melhorou a produção de frutos e o desempenho da planta sob a seca. As respostas ao ataque de patógenos não foi avaliada diretamente no estudo.

O controle de patógenos nas culturas de tomate tem sido realizado pela aplicação de uma série de fungicidas sintéticos, no entanto, seus resíduos nos tecidos podem resultar em danos para a saúde humana, poluição ambiental e resistência a biotipos dos patógenos (SUN et al., 2019). Alternativas mais seguras estão sendo desenvolvidas para diminuir o impacto da contaminação por fungos no tomateiro, uma destas é a criação de novas moléculas de pesticidas derivados de ácido tetrâmico poli-substituídos orientados por aminoácidos. A Tabela 2 resume os estudos que vem salientando a importância dos compostos de defesa e dos elicitores na resistência de diferentes produtos de origem vegetal.

Com relação ao tomate, Cui et al. (2016) observaram um aumento na concentração de taninos após a infecção por vírus do gênero Begomvirus (conhecido como o vírus da folha amarela do tomate). A α -tomatina, principal fitoalexina do tomate, demonstrou capacidade antifúngica *in vitro* e sua resistência contra patógenos em tomates (SANDROCK; VANETTEN, 1998). Um estudo conduzido por Ito et al. (2007) relatou a morte celular de *Fusarium oxysporium*, um fungo bastante presente em culturas de tomate, induzida por α -tomatina.

Tabela 2 - Compostos de defesa e dos elicitores associados à resistência a contaminação fúngica em diferentes alimentos

Compostos de defesa	Alimento	Resistência	Referência
Compostos fenólicos	Sementes neem	<i>F. graminearum</i> e tricotecenos	HEIDETTMAN et al. (2015)
	Microalgas	<i>F. graminearum</i> e tricotecenos	SCAGLIONI et al. (2019)
	Amendoim	<i>A. flavus</i>	WANG et al. (2012)
	Soja	α -amilase de <i>Aspergillus</i>	SILVA et al. (2019)
	Feijão	α -amilase de <i>Aspergillus</i>	TELLES et al. (2017)
	Microalgas	<i>F. graminearum</i>	SCAGLIONI et al. (2018)
	Farelo de arroz	<i>P. verrucosum</i>	CHRIST-RIBEIRO et al. (2019)
Fitoalexinas	Cana-de-açúcar	<i>C. falcatum</i>	KUMAR et al. (2015)
	Grãos	<i>Fusarium</i> spp.	OIKWA et al. (2004)
	Trigo	<i>F. verticillioides</i>	KETTLE et al. (2015)
Aminoácidos de defesa	Arroz	Salinidade	KADOTANI et al. (2016)
	Pepino	Salinidade	CHANG et al. (2010)
	Pêra	<i>P. expansum</i>	JIN et al. (2019)
Enzimas de defesa	Kiwi	<i>B. dothidea</i>	PAN et al. (2020)
	Algas	<i>P. expansum</i> e <i>B. cinerea</i>	ABOURAICHA et al. (2015)
	Milho	<i>S. graminicola</i>	DEVAIAH et al. (2009)

Alfosea-Simón et al. (2020) avaliaram a aplicação de uma mistura de aminoácidos, os quais continham arginina, metionina, glutamina, prolina e triptofano, em tomateiros cultivados com água salina e os resultados mostraram que a salinidade diminui o rendimento das plantas, mas aquelas em que foi aplicado a mistura foliar reverteram o efeito negativo da salinidade. Zheng et al. (2011) relataram que o tratamento com arginina induzia a resistência a *Botrytis cinérea* em tomates com a ativação das enzimas de defesas (PAL, PPO e GLU). A atividade da PAL foi significativamente maior em raízes de tomateiro com a aplicação de Silício (Si) como um elicitor contra a mancha bacteriana causada por *Pseudomonas syringae* (ANDRADE et al., 2013). Apesar de se conhecer os mecanismos de defesa possíveis nas plantas e o papel dos elicitores, estes são pouco explorados em tomates demonstrando a necessidade de se obter mais estudos.

CAPÍTULO III

**ARTIGO I – RELAÇÃO ENTRE NUTRIENTES E COMPOSTOS BIOATIVOS
DE VARIEDADES COMERCIAIS DE TOMATE POR ANÁLISE DE
COMPONENTES PRINCIPAIS**

RODRIGUES, M.H.P.; KUPSKI, L.; SOUZA, T. D.; ARIAS, J. L. O.; D'OCA, M. M.; BADIALE-FURLONG, E. Relations between nutrients and bioactive compounds of commercial tomato varieties by the Principal Component Analysis. **Food Science and Technology**, p. 1-8, 2021.

RELAÇÃO ENTRE NUTRIENTES E COMPOSTOS BIOATIVOS DE VARIEDADES COMERCIAIS DE TOMATE POR ANÁLISE DE COMPONENTES PRINCIPAIS

RESUMO

Este estudo teve como objetivo relacionar nutrientes, compostos bioativos e atividade antioxidante de variedades comerciais de tomate cultivadas em condições de campo, a fim de identificar o seu real potencial antioxidante pela Análise de Componentes Principais (PCA). Quatro variedades comerciais de tomate (Caqui, Cereja, Italiano e Longa Vida), foram homogeneizadas pelo estágio de maturação (cor, relação açúcar / acidez e pH) e avaliadas quanto aos nutrientes (açúcares, pectina e minerais) e compostos funcionais (carotenoides, perfil de compostos fenólicos e ácido ascórbico). Os tomates Cereja destacaram-se pelos teores de pectina e licopeno e pela relação açúcar / acidez. Amostras de tomate foram boas fontes de Cu e Ca. A PCA mostrou que o potencial antioxidante dos compostos fenólicos está relacionado às concentrações de ácido protocatecoico e quercetina. As variedades Cereja e Italiano se destacaram pelo conteúdo de carotenoides. Em condições de campo, os tomates Cereja e Italiano foram as melhores fontes de compostos funcionais nas variedades de maior impacto comercial e de uso na dieta humana.

Palavras-chave: Ácido ascórbico. Ácido protocatecoico. Carotenoides. Compostos fenólicos. Macrocomponentes.

1 INTRODUÇÃO

Os mecanismos antioxidantes das frutas são constituídos por enzimas e grupos químicos capazes de prevenir, inativar e evitar a propagação de radicais livres, que também determinam seu efeito positivo na dieta humana (BORGUINI; SILVA TORRES, 2009; ULEWICZ-MAGULSKA; WESOŁOWSKI, 2019). Tomates (*Solanum lycopersicum*) são frutos conhecidos como uma boa fonte de compostos bioativos, cujos efeitos estão relacionados à atividade antioxidante de carotenoides (licopeno e β -caroteno), compostos fenólicos (ácidos fenólicos e flavonoides) e ácido ascórbico (CORELL et al., 2018). A alguns destes compostos atribui-se propriedades anticarcinógenas, antimicrobianas, antimutagênicas e anti-inflamatórias (GARCÍA-HERNÁNDEZ et al., 2018; NAVARRO-GONZÁLEZ; GARCÍA-ALONSO; PERIAGO, 2018).

A cadeia produtiva de tomates construiu-se com variedades de tomate que crescem bem a temperaturas moderadas que variam de 18 a 25 °C, baixa umidade relativa do ar e baixa precipitação de chuva por 5 a 6 meses consecutivos (VALLVERDÚ-QUERALT et al., 2012).

As variedades de tomate, assim como outras espécies de culturas, foram geneticamente modificadas para melhorar a produtividade, funcionalidade e resistência à danos endógenos e exógenos, para serem consumidos *in natura* e/ou em produtos atomatados (ASENSIO et al., 2019). Consequentemente, as variedades de frutas diferem em relação aos seus perfis de metabólitos secundários, que são responsáveis pelo mecanismo de defesa e diferenciação de estágio biológico. Estes são fatores importantes a serem levados em conta na avaliação do papel que esses frutos desempenham na saúde humana (GARCÍA-HERNÁNDEZ et al., 2018; HUANG; BOXIN; PRIOR, 2005).

Estudos de efeitos de melhoramento genético nas propriedades nutricionais e funcionais do tomate têm sido conduzidos em experimentos controlados em estufas de cultivo, (CORELL et al., 2018; FATTORE et al., 2016; LI et al., 2017a) no entanto, as características genéticas são afetadas pelo manejo nos ambientes naturais das culturas. Isto porque nas regiões de produção as condições climáticas nem sempre são previsíveis ou controláveis, necessitando que seus efeitos sobre nutrientes e compostos funcionais no tomate sejam avaliados em condições de campo para destacar seus benefícios e evitar danos à saúde humana.

O potencial de variedades de tomate cultivadas em condições de campo e disponíveis em mercados para promover benefícios à saúde pode ser estimado pelo perfil de suas famílias químicas bioativas e de valor nutricional (BORGUINI; SILVA TORRES, 2009; CHOI et al., 2014; CORELL et al., 2018).

Avaliar seu potencial antioxidante por diferentes procedimentos e relacionar todos os fatores por técnicas estatísticas multivariadas, como a Análise de Componentes Principais (PCA), permite identificar de forma mais objetiva a principal família química responsável pelo potencial antioxidante. Em vista disto a técnica de PCA tem sido uma boa ferramenta para comparar matrizes alimentares, procedimentos analíticos e potencial bioativo (GRANATO; NUNES; BARBA, 2017). Ela consiste em representar relações entre amostras e variáveis graficamente resultando em novas variáveis que são os principais componentes para explicar a variabilidade e a correlação entre os dados. Por isso, é uma boa ferramenta para conhecer melhor a eficiência específica das variedades de tomate para prevenir doenças causadas por danos oxidativos. (HUANG; BOXIN; PRIOR, 2005; NAVARRO-GONZÁLEZ; GARCÍA-ALONSO; PERIAGO, 2018).

Este estudo teve como objetivo relacionar nutrientes, compostos bioativos e atividade antioxidante de variedades comerciais de tomate cultivadas em condições de campo, a fim de identificar o seu real potencial antioxidante pela Análise de Componentes Principais (PCA).

2 MATERIAL E MÉTODOS

2.1 AMOSTRAS DE TOMATE E SUAS PROPRIEDADES FÍSICO-QUÍMICAS

As variedades de tomate Caqui, Cereja, Italiano e Longa Vida foram coletados aleatoriamente em períodos distintos, ao longo do ano de 2018, no comércio da região sul do Brasil. Foram selecionados estabelecimentos de redes comerciais com alta rotatividade de produtos para garantir a variabilidade dos frutos. Nos seis períodos de coleta os frutos foram selecionados aleatoriamente nos locais de exposição, buscando uniformidade visual de tamanho, cor e textura até perfazerem em torno de 1 kg. Umidade, pectina, cor, acidez e açúcares solúveis foram determinados em frutas *in natura*. A uniformidade do estágio de maturação das amostras analíticas de todas as variedades para determinar compostos funcionais foi estabelecida pela cor, pH e razão açúcar/acido. As frutas na fase de maturação foram cominutadas, liofilizadas em liofilizador (Liotop, Modelo L101) e armazenadas a $-4\text{ }^{\circ}\text{C}$ até a realização dos experimentos. Os frutos foram liofilizados para estabilizar e concentrar componentes visando atender a sensibilidade das técnicas analíticas.

A análise de cor foi realizada em colorímetro Minolta® CR400 e determinada seguindo o sistema de cores no espaço $a^* b^*$ ou $\text{CIE-L}^*a^*b^{**}$ definido pela Comissão Internacional de Iluminação (ICI) (CIE, 1986). O pH foi medido por um potenciômetro (Hanna Instruments, Romênia) com um eletrodo de vidro. A acidez titulável foi determinada pelo volume e expressa como gramas de ácido oxálico/ 100 g amostra (AOAC, 2000). Frações solúveis e insolúveis de pectina foram determinadas pelo método gravimétrico descrito por McCready e McComb (1952).

A determinação do teor de umidade, cinzas e proteínas seguiu procedimentos descritos pela AOAC (2000). Os perfis de cálcio, ferro, cobre e manganês foram determinados pela espectrometria de absorção atômica (WATANABE et al., 2015). Para realizá-lo, 300 mg de tomate liofilizado foram digeridos em um bloco digestor a $130\text{ }^{\circ}\text{C}$ por 3 h com 3 mL de ácido nítrico e 1 mL de peróxido de hidrogênio. O volume foi aferido até 25 mL antes da leitura de absorção em um espectrômetro de absorção atômica (Perkin Elmer, Analista Modelo A 800). Os padrões de Ca, Fe, e Mn foram obtidas da Sigma Aldrich e utilizadas para estabelecer o modelo de curva padrão em seus respectivos comprimentos de onda: 422, 248, 324 e 279 nm.

Os açúcares solúveis foram determinados em 200 mg de tomate liofilizado homogeneizados com 5 mL de água destilada sob vórtice e sonificado por 5 min. A mistura foi centrifugada a $3660 \times g$ por 7 min, filtrada por um filtro Millipore de $0,45\text{ }\mu\text{m}$ (Agilent Technologies) (COYAGO-CRUZ et al., 2017) e analisada em HPLC (Shimadzu, Tóquio,

Japão, RID-10A) acoplado com detector de índice de refração e coluna Aminex HPX87H (300 mm × 7,8 mm, 9 m). O sistema operava a uma taxa de fluxo de 0,6 mL min⁻¹ a 65 °C usando ácido sulfúrico de 5 mM como fase móvel. A identificação dos açúcares nas amostras foi realizada pela comparação dos tempos de retenção com padrões de referência (Sigma Aldrich): glicose, frutose, sacarose e arabinose (JOHNSTON; MCALOON, 2014).

2.2 COMPOSTOS BIOTIVOS

A extração do ácido ascórbico foi realizada de acordo com Odriozola-Serrano, Hernández-Jover e Martín-Belloso (2007), com modificações. Foram pesadas 100 mg de tomate liofilizado e homogeneizado em 5 mL de ácido metafosfórico 4,5 %. A mistura foi centrifugada a 3220 × g por 15 min a 4 °C. O sobrenadante foi filtrado por um filtro Millipore 0.45 µm e injetado em um aparelho HPLC-RID acoplado com coluna Aminex HPX87H (300 mm × 7,8 mm, 9 m) em fluxo de 0,6 mL min⁻¹ a 65 °C usando ácido sulfúrico de 5mM como fase móvel. A identificação do ácido ascórbico nas amostras foi realizada por comparação com padrões de referência (Sigma Aldrich).

Os compostos fenólicos foram extraídos e identificados pelo método proposto por Scaglioni et al. (2014), com adaptações. Quinhentos mg de amostra liofilizada foram homogeneizados com 20 mL de etanol 80 % em um agitador horizontal por 10 min. O extrato foi filtrado em papel filtro Whatman nº 4 e o volume foi aferido para 25 mL de etanol 80 %. O teor de fenóis solúveis em etanol foi determinado pelo reagente Folin-Ciocalteu por um espectrofotômetro a 750 nm; a concentração foi estimada por uma curva padrão de ácido gálico (0 a 25 µg mL⁻¹). O perfil de ácido fenólico foi determinado em HPLC-DAD (Shimadzu, Tóquio, Japão, CLASS-M10A) acoplado a uma coluna C₁₈ (4,6 × 250 mm, 5 mm; Discovery, EUA). O fluxo de eluição foi de 0,7 mL min⁻¹ a 35 °C com o uso de metanol e água acidificada (ácido acético de 1 %) como fase móvel na razão de 20 : 80 (v/v) para 25 min; a absorção foi determinada em 280 e 320 nm (SCAGLIONI et al., 2014). Os ácidos fenólicos foram identificados pela comparação com o tempo de retenção dos padrões de referência obtidos da Sigma Aldrich: ácido cafeico, clorogênico, p-cumarico, ferúlico, gálico, p-hidroxibenzóico, protocatecoico, siríngico e ácido vanílico. A quantificação dos ácidos fenólicos foi realizada por curvas analíticas individuais para cada padrão.

A determinação dos flavonoides foi realizada pelo método proposto por Santos-Buelga, Carvalho, Ferreira, Dueñas e Barros (2012), com adaptações. A mistura foi analisada por HPLC (Shimadzu, Tóquio, Japão, CLASS-M10A) acoplado com detector DAD e uma

coluna C₁₈ 100 Kromasil 5 μ m (4,6 $\times$ 150 mm), operada a uma vazão 0,8 mL min⁻¹ a 35 °C, fase móvel constituída de água acidificada (A) (ácido fórmico 0,1%) e acetonitrila (B) em gradiente. A corrida cromatográfica foi de 30 min e os sinais de absorção foram determinados em 320 e 370 nm. A identificação e quantificação foram realizadas por comparação do tempo de retenção e das curvas analíticas de catequina, quercetina e rutina (Sigma Aldrich).

Os carotenoides foram extraídos de acordo com Rodriguez-Amaya; Kimura (2004). Foram tomados 0,1 g tomate liofilizado e homogeneizados com 5 mL éter de petróleo. A mistura foi agitada em um banho ultrassônico por 5 minutos e, em seguida, vórtice por 1 min. O sobrenadante foi coletado e o volume foi aferido até 10 mL com éter de petróleo. A determinação do total de carotenoides foi realizada em 450 e 470 nm com β -caroteno como curva padrão de referência. O éter de petróleo foi evaporado e o resíduo foi ressuspensionado em fase móvel para a avaliação cromatográfica. Os carotenoides individuais foram analisados por HPLC (Shimadzu, Tóquio, Japão, CLASS-M10A) acoplado a detector DAD, de acordo com o método proposto por Cipolatti et al. (2015). A identificação dos compostos foi realizada comparando os tempos de retenção com padrões e os espectros de absorção do comprimento de onda e a pureza da separação de cada carotenoide, quantificados pela absorvidade molar: 3450 e 2592, respectivamente.

2.3 ATIVIDADE ANTIOXIDANTE

A atividade antioxidante dos extratos fenólicos e carotenoides foi determinada em soluções de etanol, cujas diluições foram adaptadas à sensibilidade de cada método, para inferir a inibição em 50% do processo oxidativo por compostos antioxidantes em amostras.

Determinação do radical DPPH • foi realizada por um espectrômetro UV-vis (Kasuki, IL226, São Paulo, SP) a 515 nm, com 0,5 mL de metanol, 3 mL solução metanólica de DPPH ($5,2 \times 10^{-5}$ mol L⁻¹), 0,5 mL de extrato de compostos fenólicos (0,6, 1,2 e 1,8 μ g mL⁻¹) e carotenoides (250, 500 e 750 μ g mL⁻¹). A mistura de reação foi mantida à temperatura ambiente no escuro e a mudança da absorção do cromóforo roxo para o amarelo foi medida após 30 min. A capacidade de eliminar radicais livres foi expressa como inibição percentual, considerando a absorbância do controle (sem qualquer extrato) (SCHMIDT et al., 2014).

O radical ABTS foi gerado pela oxidação de ABTS 7 mM com persulfato de potássio 2,45 mM; a mistura foi mantida no escuro por 16 h em temperatura ambiente. As soluções com o radical foram diluídas em etanol para concentrações que resultaram em absorbância variando de 0,2 a 0,7 a 734 nm. Extratos de compostos fenólicos (0,7, 1,4 e 2 μ g

mL^{-1}) e carotenoides ($285,6$ e $857 \mu\text{g mL}^{-1}$) e 3mL ABTS diluídos foram adicionados ao meio de reação. A absorbância foi medida em 734 nm após uma reação de 30 min (SCHMIDT et al., 2014).

O radical hidroxila foi gerado pela oxidação de peróxido de hidrogênio em presença de Fe^{2+} (ROSSI et al., 2013). Assim, $0,5 \text{ mL}$ de sulfato de ferro 9 mM foi adicionado a $0,5 \text{ mL}$ peróxido de hidrogênio 9mM , $0,5 \text{ mL}$ de extrato fenólico ($0,04$, $0,1$ e $0,2 \mu\text{g mL}^{-1}$), extrato carotenoide (125 , 250 e $375 \mu\text{g mL}^{-1}$) e $6,5 \text{ mL}$ de água destilada. A agitação foi realizada manualmente por 10 s e a mistura permaneceu a 25°C por 10 min , seguida pela adição de $0,5 \text{ mL}$ ácido salicílico 9 mM e reação a 25°C por 30 min . A absorção da solução foi determinada por um espectrofotômetro a 510 nm .

2.4 ANÁLISE ESTATÍSTICA

A análise de variância (ANOVA) foi aplicada para comparar os resultados da composição, seguida pelo teste de Tukey com 95% de confiança, pelo programa Statistica 7.0. A análise multivariada foi realizada pelo programa de software PAST, para aplicar o PCA ao conjunto de dados (compostos fenólicos, carotenoides e atividade antioxidante nas diferentes variedades de tomate).

3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

3.1 PROPRIEDADES FÍSICAS E QUÍMICAS DOS TOMATES

Amostras de variedades comerciais de tomate utilizadas por este estudo foram produzidas por sementes híbridas que foram desenvolvidas para melhorar propriedades tecnológicas e características agrônômicas, em comparação com seus análogos convencionais. Incluem resistência a fungos e insetos, prolongamento da vida pós-colheita e características adequadas para fins de processamento.

Características organolépticas, como cor, sabor e aroma, são alcançadas por uma combinação que permite que os frutos sejam considerados maduros e compostos químicos relacionados a essas propriedades são provenientes de diferentes vias metabólicas (GUILLON et al., 2017). A cor e a relação açúcar/ácido estão associadas aos tomates maduros, portanto, sua determinação pode fornecer sinais objetivos de seu grau de maturação (ANDRIEU et al., 2014; FIGÀS et al., 2015). Neste estudo, as amostras de tomate Cereja apresentaram maior

relação de açúcar/ácido do que outras amostras, sugerindo que esta variedade atinge o índice de maturidade mais rápido do que outras variedades.

Na avaliação de cor o Croma a* representa mudança de verde (-) para vermelho (+), enquanto croma b* está relacionado com amarelo. As amostras de tomate apresentaram alta intensidade amarela. A Tabela 1 mostra os indicadores de maturidade adotados para classificar os frutos em uma etapa de maturidade uniforme em cada variedade, além de suas propriedades químicas. O maior teor total de pectina (47,3 %) foi encontrado em amostras de tomate Cereja, seguida pela variedade Longa Vida (37,4 %). Amostras de tomate Cereja podem ter maior teor de pectina devido à sua organização morfológica e estrutural, que foi determinada geneticamente. Portanto, a variedade Cereja é a melhor fonte de fibra solúvel, uma propriedade funcional.

Tabela 1 - Composição química e índice de maturação das amostras de tomate

Composição	Caqui	Cereja	Italiano	Longa Vida
Umidade (%)	94,2 ^a ± 0,4	94,6 ^a ± 0,4	94,2 ^a ± 0,1	94,9 ^a ± 0,1
Cinzas* (%)	10,0 ^a ± 0,1	6,1 ^d ± 0,2	9,2 ^b ± 0,2	8,7 ^c ± 0,3
Proteína* (%)	13,6 ^a ± 1,0	11,7 ^a ± 1,4	12,0 ^a ± 1,0	10,7 ^a ± 2,0
Pectina Solúvel* (%)	0,1 ^c ± 0,4	0,3 ^a ± 0,5	0,1 ^c ± 1,0	0,2 ^b ± 1,0
Pectina Insolúvel* (%)	20,4 ^d ± 4,0	47,0 ^b ± 2,0	29,3 ^c ± 0,6	37,2 ^a ± 0,6
Acidez* (mg g ⁻¹)	0,8 ^b ± 0,01	0,5 ^c ± 0,04	1,0 ^a ± 0,02	0,9 ^a ± 0,05
pH	4,39 ^c ± 0,01	4,71 ^a ± 0,01	4,73 ^a ± 0,01	4,54 ^b ± 0,01
Glicose (mg g ⁻¹)	151,2 ^c ± 2,1	150,0 ^c ± 6,0	195,0 ^a ± 4,0	170,0 ^b ± 5,7
Frutose (mg g ⁻¹)	213,7 ^b ± 3,0	200,0 ^b ± 1,4	247,5 ^a ± 9,5	230,0 ^a ± 8,0
AR/acidez	456,1 ^b ± 3,0	700,0 ^a ± 3,0	442,5 ^c ± 3,0	444,4 ^c ± 3,0
Fe* (µg g ⁻¹)	20,5 ^d ± 0,1	22,3 ^c ± 0,2	29,8 ^a ± 0,1	25,8 ^b ± 0,1
Mn* (µg g ⁻¹)	22,7 ^b ± 0,1	16,5 ^c ± 0,4	23,4 ^a ± 0,2	16,6 ^c ± 0,1
Cu* (µg g ⁻¹)	27,6 ^b ± 0,3	16,5 ^c ± 0,1	58,1 ^a ± 0,1	16,5 ^c ± 0,5
Ca* (µg g ⁻¹)	329,5 ^a ± 0,2	243,1 ^c ± 0,1	267,0 ^b ± 0,2	152,8 ^d ± 0,1
Croma a*	17,2 ^a ± 0,6	11,0 ^b ± 0,5	17,0 ^a ± 1,0	12,5 ^b ± 0,7
Croma b*	72,3 ^a ± 1,2	35,0 ^c ± 0,8	63,5 ^b ± 1,0	66,1 ^b ± 0,5

*Valores expressos em base seca. AR = açúcar redutor. Resultados expressos em média e desvio padrão. Letras diferentes subscritas na mesma linha indicam diferenças entre as variedades de tomate (p<0,05).

O pH mais alto foi encontrado em amostras de tomate Cereja e Italiano. Sendo os valores de pH da variedade Cereja comparáveis aos mencionados por Misra et al. (2014) e Rodriguez-Lafuente; Nerin; Battle (2010), em diferentes países. O fato sugere que o pH alto é uma característica varietal e favorável a eficiência de mecanismos de defesa contra ataques de patógenos.

Foram determinados teores de frutose, glicose, sacarose e arabinose. No entanto, apenas frutose e glicose puderam ser quantificadas, pois os outros açúcares estavam abaixo dos

limites de detecção do método utilizado. Frutose e glicose são os principais açúcares relatados por outros estudos, assim como a sacarose, que é encontrada em quantidades menores (GÓMEZ et al., 2009). A sacarose nem sempre é detectável devido à atividade de invertase ácida ser aumentada durante a maturação (ANDRIEU et al., 2014; FIGÀS et al., 2015). Além disso, a sacarose é a principal forma de translocação de açúcar em tomates (CORELL et al., 2018), o que também pode justificar por que a glicose e a frutose foram encontradas em quantidades aproximadamente iguais nos tomates, enquanto a concentração de sacarose era muito baixa. Corell et al. (2018) relataram que tomates em estágio de amadurecimento apresentaram 80 mg g^{-1} frutose e 280 mg g^{-1} glicose, enquanto amostras que não foram consideradas maduras mostraram 100 mg g^{-1} frutose e 400 mg g^{-1} glicose. Os valores desse açúcar nas amostras foram mais elevados e não permitiram a classificação em plenamente madura e não madura. Alguns pesquisadores justificaram ainda, que o teor de frutose e glicose em frutas maduras pode resultar da baixa incidência de luz durante o crescimento no campo, uma vez que a luminosidade afeta a fotossíntese, que determina o armazenamento de açúcar.

A qualidade dos alimentos também está relacionada ao seu conteúdo e tipo de minerais que contribuem para o sabor, aparência, textura e estabilidade, bem como seu valor nutricional (FERNANDES et al., 2019; NASCIMENTO et al., 2020). No entanto, o conteúdo de minerais nos frutos reflete os fatores ambientais do ambiente de cultivo (HERNÁNDEZ SUÁREZ; RODRÍGUEZ RODRÍGUEZ; DÍAZ ROMERO, 2007; WATANABE et al., 2015). Os conteúdos de Fe, Mn, Cu e Ca foram avaliados neste estudo, uma vez que possuem importância agrônômica em relação ao metabolismo vegetal (Tabela 1) e podem também contribuir para a saúde humana (BAUER; ELBAUM; WEISS, 2011). Houveram diferenças significativas no conteúdo mineral entre as variedades de tomate, mas todas elas demonstraram ser fontes promissoras de Ca. Os conteúdos de Fe, Mn e Cu foram mais elevados na variedade Italiano, enquanto o teor de Ca foi maior em amostras da variedade Caqui. Em relação à composição de carboidratos, os teores de pectina e frutose foram elevados nas variedades Cereja e Italiano, respectivamente. Nesse contexto, todas as variedades podem contribuir para a saúde humana com o aporte de componentes químicos com efeitos específicos. Destacando-se o teor de pectina e frutose que podem contribuir para o controle do índice glicêmico.

3.2 PROPRIEDADES FUNCIONAIS DAS AMOSTRAS

Os tomates e seus produtos são recomendados por causa de sua atividade antioxidante, que geralmente é atribuída a carotenoides, principalmente licopeno, compostos

fenólicos e ácido ascórbico (CHOI et al., 2014). O primeiro passo para inferir sobre a funcionalidade em cada variedade de tomate comercializada foi determinar o nível de ácido ascórbico e perfis de carotenoides e compostos fenólicos (Tabela 2). O ácido ascórbico desempenha um papel importante em diversos processos bioquímicos, como fotossíntese, regulação do crescimento e senescência. É um cofator para enzimas e afeta a expressão de genes envolvidos em caminhos de defesa e sinalização hormonal (ASENSIO et al., 2019; HUANG; BOXIN; PRIOR, 2005). Quantidades distintas de ácido ascórbico foram encontradas nas variedades de tomate, a variedade Caqui foi a que apresentou maior conteúdo. Asensio et al. (2019) encontraram valores mais baixos de ácido ascórbico do que os encontrados neste estudo (de 0,025 a 0,1 mg g⁻¹) e justificaram-no afirmando que os tomates foram cultivados em uma estufa.

Os tomates são considerados os principais fornecedores de licopeno na dieta humana. Além disso o β -caroteno é um pigmento encontrado em tecidos fotossintéticos, no entanto, sua concentração diminui em alto grau de amadurecimento, que normalmente é acompanhado pelo acúmulo de licopeno. Embora as amostras expressaram intensidade de cor amarela, atribuídas pelo Croma b*, β -caroteno não foi o carotenoide predominante. O tomate da variedade Cereja apresentou conteúdo de β -caroteno 70 % menor que as variedades Caqui e Longa Vida.

O licopeno foi encontrado em maiores concentrações (Tabela 2), principalmente em amostras da variedade Cereja. Este comportamento é consistente com parâmetros de cor vermelho. Fattore et al. (2016) encontraram 78,6 mg g⁻¹ licopeno, o que é comparável aos níveis que também foram relatados por outros autores (LEONARDI et al., 2000; RAFFO et al., 2002); todos foram superiores aos encontrados neste estudo. O estágio de amadurecimento e crescimento podem influenciar o conteúdo carotenoide (CORELL et al., 2018). Um estudo que avaliou o teor de licopeno em tomates cultivados em estufas constatou que as amostras de tomates cultivados no campo tinham menor teor de licopeno, isto mostra que a síntese de licopeno é inibida pela exposição à intensa radiação solar (ASENSIO et al., 2019). O baixo teor de licopeno, comparado a estes autores, encontrado neste estudo pode resultar do fato de que os tomates foram cultivados em condições de campo.

Tabela 2 – Ácido ascórbico, carotenoides e compostos fenólicos em amostras de tomate

Variedades de Tomate	Ácido ascórbico (mg g ⁻¹)	β-caroteno (mg g ⁻¹)	Licopeno (mg g ⁻¹)	Compostos fenólicos (mg g ⁻¹)
Caqui	4,2 ^a ± 0,4	0,17 ^b ± 2,0	10,5 ^b ± 0,5	42,5 ^a ± 1,7
Cereja	2,7 ^c ± 0,1	0,04 ^c ± 1,1	34,1 ^a ± 1,0	35,1 ^b ± 0,9
Italiano	3,3 ^b ± 0,2	0,55 ^a ± 0,9	10,2 ^b ± 0,7	34,4 ^{bc} ± 0,1
Longa Vida	3,3 ^b ± 0,1	0,16 ^b ± 1,3	15,0 ^b ± 1,0	31,6 ^c ± 2,0

Resultados expressos em média e desvio padrão. As letras diferentes subscritas na mesma coluna indicam diferenças entre as amostras de tomate ($p < 0,05$).

Metabólitos secundários, como os compostos fenólicos, são produzidos como agentes de defesa da fruta, sendo assim sua produção é principalmente uma característica genética e reflete as respostas da planta ao estresse. Consequentemente, cada variedade mostrou sua própria distribuição característica de perfis fenólicos (Tabela 3). Todas as amostras mostraram a ocorrência de ácidos fenólicos semelhantes, mas suas proporções foram diferentes. Os níveis de ácido ferúlico, gálico e vanílico estavam abaixo dos limites de detecção. Ácido p-cumarico foi detectado apenas na variedade Italiano (9,0 µg g⁻¹), enquanto o ácido siríngico só foi encontrado em amostras da variedade Cereja (141,5 µg g⁻¹). Os ácidos clorogênico e cafeico predominaram na variedade Cereja.

Em duas variedades de tomate Cereja (Summerbrix e Lazarino), Coyago-Cruz et al. (2017) encontraram ácidos hidroxibenzóico, cumárico, cafeico, clorogênico e gálico, além do flavonoide quercetina. Observaram diferenças significativas no conteúdo desses compostos em relação ao estágio de amadurecimento. O conteúdo de ácidos cumárico, cafeico e clorogênico diminuiu 48 %, 52 % e 20 %, respectivamente, em amostras de tomate que não estavam totalmente maduras. O alto teor de composto fenólico também estava relacionado com a radiação que atingiu as frutas. Este estudo não pode chegar a nenhuma conclusão sobre essa questão porque as amostras foram coletadas como consumidores, nos mercados, visando avaliar o aporte destes compostos em material comercializado.

Em relação aos flavonoides (Tabela 3), a fruta caracterizada por uma alta proporção de casca/polpa, como o tomate Cereja, contém alto teor de compostos fenólicos; catequina (548,8 µg g⁻¹) foi a predominante, em comparação com os demais. Quercetina é consistentemente relatado como o flavonoide mais abundante no tomate (FATTORE et al., 2016). O maior nível de quercetina foi encontrado no tomate Cereja (96,8 µg g⁻¹). O maior teor de rutina foi encontrado em tomates da variedade Longa Vida (60,6 µg g⁻¹), enquanto o menor foi em tomates da variedade Cereja (19,2 µg g⁻¹).

Tabela 3 - Perfil de compostos fenólicos de amostras de tomate

Ácidos fenólicos	Caqui ($\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$)	Cereja ($\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$)	Italiano ($\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$)	Longa Vida ($\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$)
Cafeico	32,0	104,7	9,6	-
Clorogênico	49,5	575,1	21,3	-
p-cumárico	-	-	9,0	-
p-hidroxibenzoico	-	5,4	8,9	22,1
Protocatecoico	121,1	47,6	118,6	36,8
Siríngico	-	141,5	<LOD	-
Catequina	83,8	548,8	100,4	89,1
Quercetina	72,6	96,8	92,2	67,3
Rutina	25,2	19,2	46,2	60,6

<LOD = Abaixo do limite de detecção (ácido ferúlico, gálico, vanílico). Cafeico, clorogênico, p-cumarico, p-hidroxibenzoico, protocatecoico, vanílico, quercetina, rutina (LOD = 1,5 ng. mL⁻¹); ferúlico, siríngico (LOD = 3,0 ng. mL⁻¹); gálico (LOD = 6,0 ng mL⁻¹); catequina (LOD = 9,0 ng mL⁻¹).

3.3 ATIVIDADE ANTIOXIDANTE

O consumo regular de produtos derivados do tomate tem sido correlacionado com a redução da suscetibilidade a doenças, tais como diversos tipos de câncer e doenças cardiovasculares (GARCÍA-HERNÁNDEZ et al., 2018; NAVARRO-GONZÁLEZ; GARCÍA-ALONSO; PERIAGO, 2018). São causadas por processos oxidativos que não são acionados por este. Assim, as atividades de compostos químicos para mitigar danos também devem ser diferentes. A capacidade antioxidante de um composto antioxidante para inativar a propagação radical é determinada por sua estrutura química e reatividade para afetar processos oxidativos *in vivo*. O principal determinante dos efeitos benéficos é o potencial de redução de grupos químicos, em vez da concentração antioxidante total em uma fonte.

Procedimentos *in vitro* têm sido adotados para avaliar o potencial antioxidante de grupos químicos em diferentes condições de redução de oxidação (ZIELINSKI et al., 2020). Considerando que cada variedade de tomate tinha seu próprio perfil de compostos redutores em extratos carotenogênicos e fenólicos, o potencial de redução foi avaliado por diferentes métodos. A atividade antioxidante foi expressa como concentração ($\mu\text{g mL}^{-1}$) de carotenoides ou compostos fenólicos necessários para promover 50 % de inibição (IC50) do processo oxidativo. Esta estratégia permite comparar efeitos antioxidantes porque cada método é baseado em uma condição cinética que é específica para seu mecanismo e estequiometria. Portanto, comparar a inibição dos processos oxidativos como percentuais pode distorcer a capacidade real que cada extrato possui para mitigar danos que podem ser promovidos por diferentes mecanismos. O IC50 mais baixo representa o extrato mais eficiente para proteger a saúde.

Os extratos fenólicos foram eficientes para inibir os radicais peroxil (DPPH), reações oxidativas mediadas por compostos metálicos (ABTS) e pelo radical hidroxila (OH). No entanto, extratos carotenogênicos apresentaram efeito apenas quando as altas concentrações de extratos foram utilizadas. Considerando que os carotenoides são compostos hidrofóbicos, esses resultados eram esperados para esses métodos, cujas reações ocorrem em meio polar, embora tenham sido aplicadas por outros pesquisadores para inferir potencial antioxidante de carotenoides.

Tabela 4 - Atividades antioxidantes de extratos fenólicos e carotenoides expressos como IC50 ($\mu\text{g mL}^{-1}$)

Variedades de tomate	Compostos fenólicos			Carotenoides		
	DPPH	ABTS	Radical hidroxila	DPPH	ABTS	Radical hidroxila
Caqui	$1,8^a \pm 1,1$	$1,2^a \pm 0,6$	$0,03^c \pm 1,0$	$400^c \pm 0,5$	$1670^b \pm 0,8$	$140^b \pm 0,6$
Cereja	$1,5^b \pm 0,8$	$1,1^a \pm 1,4$	$0,11^a \pm 1,0$	$555^a \pm 0,4$	$2500^a \pm 0,8$	$160^a \pm 1,0$
Italiano	$1,5^b \pm 2,0$	$1,1^a \pm 2,2$	$0,11^a \pm 1,2$	$446^b \pm 1,0$	$1000^c \pm 1,0$	$156^a \pm 1,2$
Longa Vida	$1,7^a \pm 0,8$	$1,1^a \pm 1,0$	$0,07^b \pm 1,5$	$357^d \pm 1,1$	$1667^b \pm 0,9$	$162^a \pm 0,7$

Resultados expressos em média e desvio padrão. As letras diferentes subscritas na mesma coluna indicam diferenças entre as amostras de tomate ($p < 0,05$).

Os compostos fenólicos são os principais inibidores da atividade antioxidante, principalmente no tomate Italiano, que inibiu os radicais DPPH e ABTS, e o tomate Longa Vida, para o radical OH. Nestes tomates, os compostos fenólicos destacaram-se pela concentração de ácido protocatecoico e catequina, indicando que estes podem ser responsáveis pela inibição de radicais livres liberados por qualquer mecanismo. Os tomates Italiano e Cereja se destacaram por suas atividades antioxidantes, embora não apresentem diferenças em suas concentrações de compostos fenólicos livres. Assim, foi empregada a análise estatística multivariada, a PCA, para explicar de forma mais objetiva a correlação entre os diferentes parâmetros que afetam as propriedades funcionais do tomate.

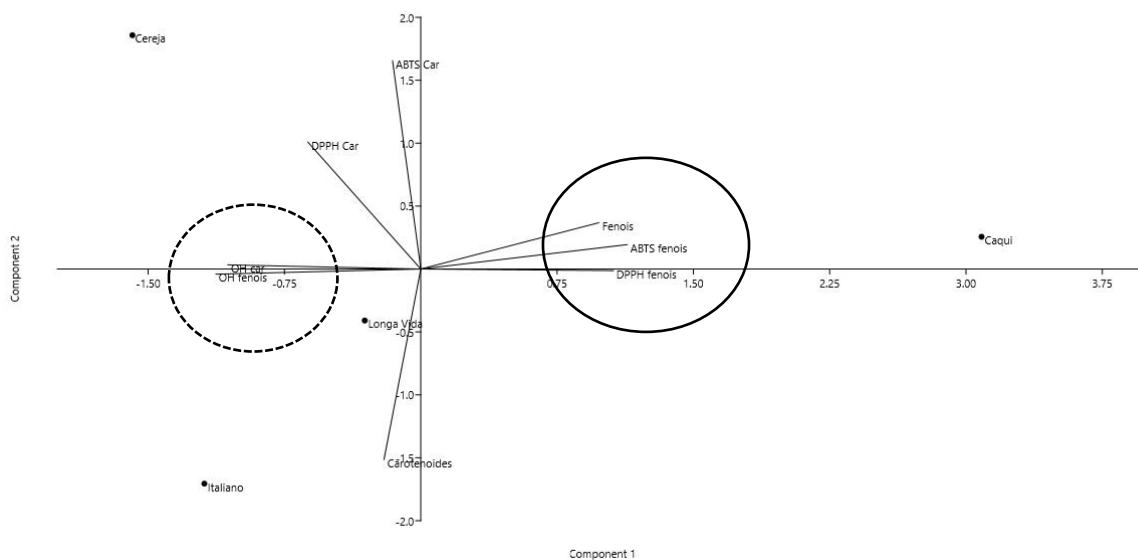
3.4 ANÁLISE DE COMPONENTES PRINCIPAIS

O conjunto de dados para o primeiro PCA foi uma matriz 4x8 (linhas x colunas) onde as linhas eram a variedade de tomate e as colunas eram os compostos fenólicos, carotenoides e suas atividades antioxidantes. O PCA mostrou que 84,7% da variabilidade foi explicada pelo componente 1 (61,5%) e componente 2 (23,2%). Os compostos fenólicos apresentaram alta correlação ($R:0,94$) com a captura do radical ABTS, que é o principal

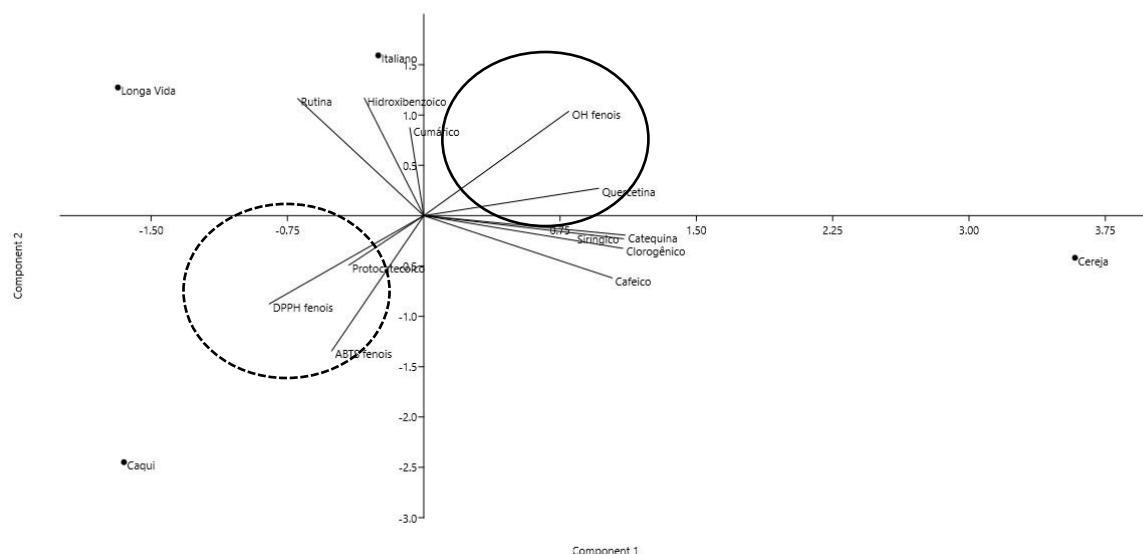
indicador responsável pela inibição da propagação do radical do peroxil (Apêndice 1). No entanto, a concentração de carotenoides teve uma relação inversa com a inibição radical de ABTS e DPPH. Essa tendência já havia sido observada quando o potencial antioxidante dos extratos foi avaliado antes da avaliação estatística.

Para identificar o ácido fenólico que teve o maior efeito na atividade antioxidante dos extratos de tomate, foi realizado um novo PCA (Figura 2). O conjunto de dados para o segundo PCA foi uma matriz 4x12 (linhas x colunas) onde as linhas eram a variedade de tomate e as colunas eram os ácidos fenólicos e atividades antioxidantes. A PCA mostrou que 79,8% da variabilidade do resultado foi explicada pelo componente 1 (51,5%) e componente 2 (28,3%). Entre os ácidos fenólicos, o protocatecoico está mais correlacionado com o radical DPPH (0,84) (Apêndice 2). Por isso, é responsável principalmente pela prevenção do mecanismo de oxidação promovido pelos radicais de oxigênio. Perfis de compostos fenólicos e carotenoides encontrados em amostras de tomate reforçam melhor sua atividade antioxidante, em vez de seu conteúdo total de carotenoides.

Figura 1 - Análise de PCA de compostos antioxidantes



Car = carotenoide; OH = Radical hidroxila

Figura 2 - Análise PCA do perfil de compostos fenólicos

OH = Radical Hidroxila

4 CONCLUSÃO

A variedade de tomate Cereja foi a melhor fonte de fibra solúvel, pois se destacou pela pectina, relação açúcar/ácido, ácido cafeico, clorogénico, catequina, quercetina e teor de licopeno. Quanto aos componentes minerais essenciais, Cu e Ca apresentaram os níveis mais altos nas amostras. Os compostos fenólicos explicam melhor o potencial antioxidante do que os carotenoides. A PCA mostrou que o ácido protocatecoico e a quercetina estão mais intimamente relacionados com a atividade antioxidante das amostras, enquanto com os carotenoides, a correlação foi negativa. Considerando amostras cultivadas em condições de campo e disponíveis em mercados, tanto a variedade Cereja quanto a variedade Italiano são as melhores fontes de compostos funcionais entre aquelas de impacto no comércio e na dieta humana.

5 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ANDRIEU, M.-H.; BEAUVOIT, B. P.; GIBON, Y.; MAZAT, J.-P.; COLOMBIE, S.; CHENICLET, C.; BENARD, C.; MONIER, A.; BIAIS, B.; NAZARET, C.; DIEUAIDE-NOUBHANI, M. Model-Assisted Analysis of Sugar Metabolism throughout Tomato Fruit Development Reveals Enzyme and Carrier Properties in Relation to Vacuole Expansion. **The**

Plant Cell, v. 26, n. 8, p. 3224–3242, 2014.

AOAC. **Official methods of analysis**. 17 th ed. 2000.

ASENSIO, E.; SANVICENTE, I.; MALLOR, C.; MENAL-PUEY, S. Spanish traditional tomato. Effects of genotype, location and agronomic conditions on the nutritional quality and evaluation of consumer preferences. **Food Chemistry**, v. 270, n. July 2018, p. 452–458, 2019.

BAUER, P.; ELBAUM, R.; WEISS, I. M. Calcium and silicon mineralization in land plants: Transport, structure and function. **Plant Science**, v. 180, n. 6, p. 746–756, 2011.

BORGUINI, R. G.; DA SILVA TORRES, E. A. F. Tomatoes and tomato products as dietary sources of antioxidants. **Food Reviews International**, v. 25, n. 4, p. 313–325, 2009.
CHOI, S. H.; KIM, D. S.; KOZUKUE, N.; KIM, H. J.; NISHITANI, Y.; MIZUNO, M.; LEVIN, C. E.; FRIEDMAN, M. Protein, free amino acid, phenolic, β -carotene, and lycopene content, and antioxidative and cancer cell inhibitory effects of 12 greenhouse-grown commercial cherry tomato varieties. **Journal of Food Composition and Analysis**, v. 34, n. 2, p. 115–127, 2014.

CIE. **Colorimetry. Publication CIE 15.2**. 2º ed. 1986.

CIPOLATTI, E. P.; BULSING, B. A.; SA, C. dos S.; BURKERT, C. A. V.; BADIALE-FURLONG, E.; BURKERT, J. F. de M. Carotenoids from *Phaffia rhodozyma*: Antioxidant activity and stability of extracts. **African Journal of Biotechnology**, v. 14, n. 23, p. 1982–1988, 2015.

CORELL, M.; BELTRÁN-SINCHIGUANO, E.; STINCO, C. M.; MAPELLI-BRAHM, P.; COYAGO-CRUZ, E.; MORIANA, A.; HERNANZ, D.; MELÉNDEZ-MARTÍNEZ, A. J. Study of commercial quality parameters, sugars, phenolics, carotenoids and plastids in different tomato varieties. **Food Chemistry**, v. 277, p. 480-489, 2018.

COYAGO-CRUZ, E.; CORELL, M.; MORIANA, A.; HERNANZ, D.; STINCO, C. M.; MELÉNDEZ-MARTÍNEZ, A. J. Effect of the fruit position on the cluster on fruit quality, carotenoids, phenolics and sugars in cherry tomatoes (*Solanum lycopersicum* L.). **Food Research International**, v. 100, p. 804–813, 2017.

FATTORE, M.; MONTESANO, D.; PAGANO, E.; TETA, R.; BORRELLI, F.; MANGONI, A.; SECCIA, S.; ALBRIZIO, S. Carotenoid and flavonoid profile and antioxidant activity in “Pomodoro Vesuviano” tomatoes. **Journal of Food Composition and Analysis**, v. 53, n. 1238, p. 61–68, 2016.

FERNANDES, M. de F. L.; DE MORAES, S. M.; DE SOUSA, P. H. M.; MAGALHÃES, C. E. de C.; ALMEIDA, M. M. B.; SILVA, M. G. de V. Characterization of leaves used in infusion preparation grown in northeastern Brazil by chemometric methods based on their multi-elemental composition. **Food Science and Technology**, v. 39, n. June, p. 309–315, 2019.

FIGÀS, M. R.; PROHENS, J.; RAIGÓN, M. D.; FITA, A.; GARCÍA-MARTÍNEZ, M. D.; CASANOVA, C.; BORRÀS, D.; PLAZAS, M.; ANDÚJAR, I.; SOLER, S. Characterization

of composition traits related to organoleptic and functional quality for the differentiation, selection and enhancement of local varieties of tomato from different cultivar groups. **Food Chemistry**, v. 187, p. 517–524, 2015.

GARCÍA-HERNÁNDEZ, J.; HERNÁNDEZ-PÉREZ, M.; PEINADO, I.; ANDRÉS, A.; HEREDIA, A. Tomato-antioxidants enhance viability of *L. reuteri* under gastrointestinal conditions while the probiotic negatively affects bioaccessibility of lycopene and phenols. **Journal of Functional Foods**, v. 43, p. 1–7, 2018.

GÓMEZ, P.; ÁNGELES FERRER, M.; PABLO FERNÁNDEZ-TRUJILLO, J.; CALDERÓN, A.; ARTÉS, F.; EGEA-CORTINES, M.; WEISS, J. Structural changes, chemical composition and antioxidant activity of cherry tomato fruits (cv. Micro-Tom) stored under optimal and chilling conditions. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, v. 89, n. 9, p. 1543–1551, 2009.

GRANATO, D.; NUNES, D. S.; BARBA, F. J. An integrated strategy between food chemistry, biology, nutrition, pharmacology, and statistics in the development of functional foods: A proposal. **Trends in Food Science and Technology**, v. 62, p. 13–22, 2017.

GUILLON, F.; MOÏSE, A.; QUEMENER, B.; BOUCHET, B.; DEVAUX, M. F.; ALVARADO, C.; LAHAYE, M. Remodeling of pectin and hemicelluloses in tomato pericarp during fruit growth. **Plant Science**, v. 257, p. 48–62, 2017.

HERNÁNDEZ SUÁREZ, M.; RODRÍGUEZ RODRÍGUEZ, E. M.; DÍAZ ROMERO, C. Mineral and trace element concentrations in cultivars of tomatoes. **Food Chemistry**, v. 104, n. 2, p. 489–499, 2007.

HUANG, D.; BOXIN, O. U.; PRIOR, R. L. The chemistry behind antioxidant capacity assays. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 53, n. 6, p. 1841–1856, 2005.

JOHNSTON, D. B.; MCALOON, A. J. Protease increases fermentation rate and ethanol yield in dry-grind ethanol production. **Bioresource Technology**, v. 154, p. 18–25, 2014.

LEONARDI, C.; AMBROSINO, P.; ESPOSITO, F.; FOGLIANO, V. Antioxidative activity and carotenoid and tomatine contents in different typologies of fresh consumption tomatoes. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 48, n. 10, p. 4723–4727, 2000.

LI, N.; LI, Z.; HUANG, W.; HABIB, S.; YANG, L.; HU, G. Functional Characterization of SISAHH2 in Tomato Fruit Ripening. **Frontiers in Plant Science**, v. 8, p. 1–12, 2017.

MCCREADY, R. M.; MCCOMB, E. A. Extraction and Determination of Total Pectic Materials in Fruits. **Analytical Chemistry**, v. 24, n. 12, p. 1986–1988, 1952.

MISRA, N. N.; KEENER, K. M.; BOURKE, P.; MOSNIER, J. P.; CULLEN, P. J. In-package atmospheric pressure cold plasma treatment of cherry tomatoes. **Journal of Bioscience and Bioengineering**, v. 118, n. 2, p. 177–182, 2014.

NASCIMENTO, M. M.; DE JESUS, R. M.; SANTOS, H. M.; DA SILVA JUNIOR, A. L. S.; CAMPOS, N. M. C. O.; DA SILVA, E. G. P.; LÔBO, I. P. Quality pattern evaluation of frozen soursop pulps: An assessment based on chemical composition and chemometric

analysis. **Food Science and Technology**, v. 40, n. 2, p. 508–516, 2020.

NAVARRO-GONZÁLEZ, I.; GARCÍA-ALONSO, J.; PERIAGO, M. J. Bioactive compounds of tomato: Cancer chemopreventive effects and influence on the transcriptome in hepatocytes. **Journal of Functional Foods**, v. 42, p. 271–280, 2018.

ODRIOZOLA-SERRANO, I.; HERNÁNDEZ-JOVER, T.; MARTÍN-BELLOSO, O. Comparative evaluation of UV-HPLC methods and reducing agents to determine vitamin C in fruits. **Food Chemistry**, v. 105, n. 3, p. 1151–1158, 2007.

RAFFO, A.; LEONARDI, C.; FOGLIANO, V.; AMBROSINO, P.; SALUCCI, M.; GENNARO, L.; BUGIANESI, R.; GIUFFRIDA, 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, n. 22, p. 6550–6556, 2002.

RODRIGUEZ-AMAYA, D. B.; KIMURA, M. **HarvestPlus Handbook for Carotenoid Analysis**. 2004.

RODRIGUEZ-LAFUENTE, A. NERIN, C. BATTLE, R. Active paraffin-based paper packaging for extending the shelf life of Cherry tomato. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 58, p. 6780–6786, 2010.

ROSSI, M.; CARUSO, F.; ANTONIOLETTI, R.; VIGLIANTI, A.; TRAVERSI, G.; LEONE, S.; BASSO, E.; COZZI, R. Scavenging of hydroxyl radical by resveratrol and related natural stilbenes after hydrogen peroxide attack on DNA. **Chemico-Biological Interactions**, v. 206, n. 2, p. 175–185, 2013.

SANTOS-BUELGA, C.; CARVALHO, A. M.; FERREIRA, I. C. F. R.; DUEÑAS, M.; BARROS, L. Characterization of phenolic compounds in flowers of wild medicinal plants from Northeastern Portugal. **Food and Chemical Toxicology**, v. 50, n. 5, p. 1576–1582, 2012.

SCAGLIONI, P. T.; DE SOUZA, T. D.; SCHMIDT, C. G.; BADIALE-FURLONG, E. Availability of free and bound phenolic compounds in rice after hydrothermal treatment. **Journal of Cereal Science**, v. 60, n. 3, p. 526–532, 2014.

SCHMIDT, C. G.; GONÇALVES, L. M.; PRIETTO, L.; HACKBART, H. S.; FURLONG, E. B. Antioxidant activity and enzyme inhibition of phenolic acids from fermented rice bran with fungus *Rizhopus oryzae*. **Food Chemistry**, v. 146, p. 371–377, 2014.

ULEWICZ-MAGULSKA, B.; WESOŁOWSKI, M. Total Phenolic Contents and Antioxidant Potential of Herbs Used for Medical and Culinary Purposes. **Plant Foods for Human Nutrition**, v. 74, n. 1, p. 61–67, 2019.

VALLVERDÚ-QUERALT, A.; JÁUREGUI, O.; MEDINA-REMÓN, A.; LAMUELA-RAVENTÓS, R. M. Evaluation of a method to characterize the phenolic profile of organic and conventional tomatoes. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 60, n. 13, p. 3373–3380, 2012.

WATANABE, M.; OHTA, Y.; LICANG, S.; MOTOYAMA, N.; KIKUCHI, J. Profiling

contents of water-soluble metabolites and mineral nutrients to evaluate the effects of pesticides and organic and chemical fertilizers on tomato fruit quality. **Food Chemistry**, v. 169, p. 387–395, 2015.

ZIELINSKI, A. A. F.; ALBERTI, A.; BONA, E.; BORTOLINI, D. G.; BENVENUTTI, L.; BACH, F.; DEMIATE, I. M.; NOGUEIRA, A. A multivariate approach to differentiate yerba mate (*Ilex paraguariensis*) commercialized in the Southern Brazil on the basis of phenolics, methylxanthines and in vitro antioxidant activity. **Food Science and Technology**, v. 40, n. 3, p. 645–652, 2020.

**ARTIGO II - RASTREABILIDADE DE TOMATES (*solanun lycopersicum*) COM
BASE EM SEU PERFIL ENZIMÁTICO**

RODRIGUES, M. H. P.; COLLAZZO, C. C; MARQUES, C. G.; SENNA, C. A; SOUZA, T. D.; BADIALE-FURLONG, E. Traceability of tomatoes (*Solanun lycopersicum*) based on their enzymatic profile. **Food Bioscience**, v. 43, p. 101269, 2021.

RASTREABILIDADE DE TOMATES (*solanun lycopersicum*) COM BASE EM SEU PERFIL ENZIMÁTICO

RESUMO

O objetivo deste estudo foi avaliar o impacto da variedade e do tipo de cultivo (convencional e orgânico) na atividade das enzimas, possibilitando o rastreamento do tomate. Três variedades de tomate (Caqui, Cereja e Italiano), oficialmente certificadas e vendidas no comércio, foram coletadas em diferentes épocas do ano. As amostras analíticas de cada variedade foram padronizadas quanto estágio de maturação pelos indicadores de maturação (cor, açúcar/acidez). Os ensaios utilizados para determinação das atividades enzimáticas foram previamente padronizados para invertase (INV), poligalacturonase (PG), peroxidase (PO), polifenoloxidase (PPO), catalase (CAT) e fenilalanina-amônia-liase (PAL). As atividades enzimáticas foram correlacionadas com os sistemas de cultivo pela Análise de Componentes Principais (PCA). As atividades enzimáticas de PO, PPO, CAT e PAL mostraram-se úteis para a certificação e rastreabilidade do tomate, uma vez que sua correlação foi superior a 0,9. A análise estatística confirmou que as atividades PO e CAT foram as mais promissoras para encontrar um modelo de resposta ao sistema de cultivo. Os perfis enzimáticos das variedades Italiano e Cereja foram os mais afetados pelo manejo da cultura. Com isso, foi possível relacionar o sistema de cultivo com os mecanismos de defesa em frutos e detectar potenciais marcadores para o manejo do tomate.

Palavras-chave: Carboidrases. Cultivo convencional. Cultivo orgânico. Fenilalanina-amônia.liase. Hidrolases. Oxirredutases.

1 INTRODUÇÃO

O tomate (*Solanum lycopersicum*) é um dos frutos mais consumidos, fresco ou processado em todo o mundo. Sua composição química é influenciada por fatores genéticos, estágio de desenvolvimento, condições climáticas, solo e sistemas de cultivo, como orgânico e convencional (DESHMUKH et al., 2011).

O efeito do cultivo orgânico e convencional sobre parâmetros sensoriais, nutricionais e de rendimento em diferentes variedades de tomates vem sendo bastante estudado pois o cultivo orgânico é uma alternativa mais sustentável para a produção de frutos (OLIVEIRA et al., 2017; MARTÍ et al., 2018; VINHA et al., 2014). No entanto, os resultados destes estudos são controversos quanto ao impacto nos parâmetros de qualidade de frutos provenientes de ambos os modelos de cultivos (CARDOSO et al., 2017; OLIVEIRA et al., 2017; SEUFERT; RAMANKUTTY; FOLEY, 2012).

No que se refere à resistência a patógenos, os vegetais empregam como defesa compostos fenilpropanoides, como os ácidos fenólicos, flavonoides, isoflavonoides, estibenos e lignanas, que são sintetizados com a participação de enzima L-fenilalanina-amônia-liase (PAL) (SHADLE et al., 2003). A atividade de enzimas que promovem a degradação da parede celular, como as hidrolases e transglucosilases, que levam ao amolecimento do fruto durante o amadurecimento, também contribuem para a defesa da planta junto com as enzimas oxido-redutases (superóxido dismutase, catalase, ascorbato peroxidase) e fenilalanina-amônia-liase.

O efeito do cultivo orgânico sobre as enzimas oxido-redutases foi demonstrado por Oliveira et al. (2017) em frutos de maracujá nos quais foi registrado aumento da atividade delas quando comparadas ao sistema de cultivo convencional, fato que sugere que o sistema de cultivo orgânico induziu um estresse oxidativo no fruto.

Em frutos de tomate, estudos específicos que comparam as características de enzimas relacionadas a mecanismos de defesa foram pouco explorados. Pela importância nutricional e econômica dos tomates na cadeia produtiva de alimentos as diferenças promovidas pelo tipo de cultivo em cada classe enzimática nas diferentes variedades comercializadas precisam ser esclarecidas para guiar protocolos de manejo das culturas e aplicação do fruto em nível doméstico ou industrial. As atividades destas classes de enzimas, além de serem determinantes para a qualidade dos frutos, podem indicar condições adversas para a qualidade ocasionadas por efeitos físicos, químicos e/ou biológicos.

Em vista do exposto, avaliamos o impacto da variedade e do tipo de cultivo (convencional e orgânico) na atividade das enzimas relativas a manifestações climáticas e aos mecanismos de defesa em frutos de tomates produzidos em condições naturais de cultivo convencional e orgânico, visando detectar potenciais marcadores do manejo nas características varietais dos frutos, visando contribuir para rastreabilidade deles.

2 MATERIAL E METÓDOS

2.1 AMOSTRAGEM E PADRONIZAÇÃO DOS FRUTOS

Amostras de tomates das variedades Caqui, Cereja e Italiano foram coletados aleatoriamente em períodos distintos, ao longo do ano de 2019, no comércio da região sul do Brasil. Foram selecionados estabelecimentos de redes comerciais com alta rotatividade de produtos para garantir a variabilidade dos frutos. Nos seis períodos de coleta os frutos foram tomados aleatoriamente nos locais de exposição, buscando uniformidade visual de tamanho,

cor e textura até perfazerem em torno de 1 kg. Os tomates provenientes de cultivo orgânico foram adquiridos com selo de certificação concedido pelo Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento do Brasil (MAPA) observando o mesmo critério de escolhas.

Para o preparo das amostras analíticas foi considerado a uniformidade do estágio de maturação nas variedades de frutos estabelecida pela determinação da razão açúcar/ácido e pela cor determinada por colorimetria em cada coleta nos períodos de amostragem (CIE, 1986). Os tomates inteiros que se encontravam no mesmo estágio de maturação foram fragmentados e liofilizados em liofilizador de bancada (Liotop, Modelo L101) e armazenados a - 4 °C em freezer até o momento de realização das determinações.

2.2 CARACTERIZAÇÃO QUÍMICA DAS AMOSTRAS

A determinação de pectina total foi realizada nas amostras *in natura* empregando o método descrito por McCready e McComb (1952).

Os açúcares solúveis foram determinados em 200 mg de tomate liofilizado e homogeneizados com 5 mL de água destilada sob vórtice e sonicado por 5 min. A mistura foi centrifugada a $3660 \times g$ por 7 min, filtrado por um filtro Millipore de 0,45 μm (Agilent Technologies) (COYAGO-CRUZ et al., 2017) e analisado em HPLC (Shimadzu, Tóquio, Japão, RID-10A) acoplado com detector de índice de refração e uma coluna Aminex HPX87H (300 mm $\times$ 7,8 mm, 9 μm). O sistema operava a uma taxa de fluxo de 0,6 mL min⁻¹ a 65 °C usando ácido sulfúrico de 5mM como fase móvel. A identificação dos açúcares nas amostras foi realizada por comparação com tempo de retenção dos padrões de referência (Sigma Aldrich): glicose, frutose, sacarose e arabinose (JOHNSTON; MCALOON, 2014).

A fenilalanina foi determinada por HPLC-FL acoplado de derivatizador pós-coluna (Shimadzu, LC-20AD, Tóquio, Japão), após hidrólise sob pressão (1 atm), limpeza por filtro Millipore de 0,45 μm (Agilent Technologies) e derivatização (ortoftalaldeído), de acordo com o método adaptado de Denardi-Souza et al. (2018).

2.3 ATIVIDADE DAS ENZIMAS OXIRREDUTASES, CARBOIDRASES E LIASE

2.3.1 Obtenção dos extratos enzimáticos

A atividade das enzimas nas amostras de tomate foi determinada em extrato salino purificado. A extração consistia em pesar 2 g de amostra liofilizada, homogeneizar em 30 mL de NaCl 0,9%, em agitador orbital por 15 min a 25°C.

As frações sólidas e líquidas foram separadas por centrifugação, sendo o sobrenadante submetido a precipitação proteica com adição fracionada, em três etapas, de 50 mL de acetona a 4 °C seguido de repouso por 30 min entre cada adição. O precipitado foi separado por centrifugação a 3220 x g por 10 min e o precipitado proteico ressuspense em 10 mL de NaCl 0,9 % (fração F1) para determinação da atividade das enzimas peroxidase, polifenoloxidase, fenilalanina-amônia-liase e poligalacturonase.

Para determinar a atividade de catalase e de invertase foi necessário adequar o mesmo protocolo, substituindo a solução salina por tampão fosfato 0,1 M pH 5,0.

Para cada variedade de tomate foi determinado o teor de proteína solúvel presente no extrato enzimático pelo método colorimétrico de Lowry et al. (1951) utilizando curva padrão de albumina (0,02 a 0,1 mg mL⁻¹).

2.3.2 Invertase (INV)

Para avaliar a atividade desta enzima foi utilizado como substrato uma solução de sacarose (0,35 % p/v em tampão acetato de sódio 5 mM pH 5,0). A reação consistia na adição de 0,2 mL de extrato enzimático (F1) e 0,8 mL de solução do substrato sacarose que reagiram a 40 °C por 5 min. Após a reação enzima-substrato foi adicionado 1 mL de reagente DNS, a mistura reagiu 5 min à 100 °C para gerar o cromóforo com o açúcar redutor liberado e a absorbância foi lida em espectrofotômetro a 540 nm. A quantidade de glicose liberada foi calculada usando curva padrão (0,02 a 0,1 mg mL⁻¹) e a atividade da INV foi estimada considerando que uma unidade de enzima corresponde a quantidade de proteína necessária para produzir 1 µmol de glicose por minuto (SOARES et al., 2019).

2.3.3 Poligalacturonase (PG)

A atividade da poligalacturonase foi estimada empregando como substrato pectina comercial (Farmaquímica S.A, pureza 95%). Uma quantidade de 0,9 mL de solução de pectina 0,5% (em tampão citrato 0,1 M pH 4,0) foi colocada em banho por 5 min para a estabilização da temperatura reacional (50 °C) e na sequência foi adicionado 0,1 mL de extrato enzimático que atuou sobre o substrato por 15 min. O aumento do poder redutor do meio por ação da enzima foi medido adicionando 1 mL de reagente DNS levando em banho à 100 °C por 5 min para a redução do reagente cromogênio. Após o resfriamento em banho de gelo foram adicionados 5 mL de água destilada e a absorbância foi medida a 540 nm. O produto formado foi quantificado usando a curva padrão de ácido galacturônico (0,02 a 0,1 mg mL⁻¹). Para a atividades enzimática de PG foi definido que uma unidade de enzima corresponde a quantidade de proteína necessária para produzir 1 µmol de ácido galacturônico por minuto (RODRÍGUEZ-FERNÁNDEZ et al., 2011).

2.3.4 Peroxidases (PO)

Para determinação da atividade de peroxidase foi utilizado o método adaptado de Feltrin et al. (2017) usando como substrato solução de guaiacol 0,5%. Para reação enzimática foram adicionados 1,5 mL de tampão fosfato 0,1 M pH 5,5; 1 mL de extrato F1, 1,5 mL de água destilada; 1 mL de peróxido de hidrogênio 0,08% e 1 mL de solução de guaiacol. A mistura foi mantida a 40 °C por 10 min e a leitura da absorbância foi realizada a 470 nm. A atividade enzimática de PO nos extratos foi avaliada considerando que uma unidade de enzima era a quantidade de proteína do extrato necessária para promover o aumento de 0,1 unidades de absorbância por minuto.

2.3.5 Polifenoloxidase (PPO)

A atividade da PPO foi determinada por método adaptado de Benaceur et al. (2020), usando como substrato uma solução de catecol 0,05M. A reação enzimática foi realizada pela adição de 1,5 mL de tampão fosfato 0,1 M pH 6,0; 1 mL de extrato enzimático; 2,5 mL de água destilada e 1 mL de solução de catecol. A mistura reacional foi mantida a 30 °C por 10 min e a leitura da absorbância pela formação do produto oxidado foi determinado a 425 nm. A

atividade de PPO nos extratos foi definida como uma unidade de enzima que corresponde a quantidade de proteína (mg) do extrato necessária para promover o aumento de 0,1 unidades de absorvância por minuto.

2.3.6 Atividade de Catalase (CAT)

A atividade de CAT foi medida pela reação entre a enzima e seu substrato (peróxido de hidrogênio), conforme método adaptado de Pan et al. (2020). Para isto, foram adicionados 4 mL de extrato enzimático; 1 mL de tampão fosfato 0,2 M pH 5.0 mantidos a 30 °C por 5 min. Em seguida, foram adicionados 5 mL de peróxido de hidrogênio 0,08 %, repouso por 5 min e interrupção da reação pela adição de 5 mL de ácido sulfúrico 10 %. No experimento controle foram adicionados extrato enzimático (F1) e 5 mL de ácido sulfúrico com adição posterior do substrato. O consumo do substrato na reação foi determinado pela leitura das absorvâncias a 240 nm. Para atividade de CAT foi definido que uma unidade de enzima é a quantidade de proteína (mg) que transforma 1 μ mol de peróxido de hidrogênio por minuto.

2.3.7 Fenilalanina-amônia-liase (PAL)

A atividade da PAL foi determinada utilizando L-fenilalanina como substrato. Foram adicionados a 100 μ l de extrato enzimático (F1), 400 μ l de tampão Tris-HCl 25 mM pH 8,8 e 500 μ l de L-fenilalanina 100 mM. A reação foi realizada a 30 °C durante 4 h, finalizada pela adição de 60 μ l de HCl 6 M e leitura do produto formado a 290 nm. A atividade da PAL foi estimada considerando que uma unidade de enzima corresponde a quantidade de proteína necessária para produzir 1 μ mol de ácido transcinâmico por minuto (ANDRADE et al., 2013).

2.4 ANÁLISE ESTATÍSTICA

A Análise de Variância MANOVA foi aplicada aos resultados de composição química, seguida pelo teste de Tukey, com 95% de confiança entre variedade e modo de cultivo. Test “t” foi aplicado entre as atividades enzimáticas para comparação entre os resultados dos cultivos orgânicos e convencional. A análise foi realizada pelo programa Statistica 7. A análise de PCA foi realizada pelo programa PAST (folk.uio.no/ohammer/past) e foi aplicada ao

conjunto de dados (enzimas carboidrases, oxirredutases e liase para todas as variedades de tomate).

3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

As amostras das variedades de tomate utilizadas neste estudo foram escolhidas por sua importância na cadeia produtiva de alimentos tanto para consumo *in natura* ou para processamento industrial e por apresentam características morfológicas e sensoriais bastante distintas. Em geral os estudos sobre diferenças varietais ou de cultivo em frutos são realizados sob condições controladas em estufas, mas neste caso foi realizada uma avaliação da atividade das enzimas em amostras disponíveis no comércio, para apreciar o efeito do manejo convencional ou orgânico realizado em condições de produção em campo e desta forma avaliar o efeito do ambiente natural nas manifestações das enzimas. Em nosso estudo, a homogeneidade do estágio de maturação das amostras foi considerada para a interpretação dos resultados, uma vez que a maturidade está diretamente relacionada com a atividade das enzimas envolvidas, com o climatério e com os mecanismos de defesa.

Previamente ao estudo, as condições para obtenção e purificação dos extratos enzimáticos foram padronizadas. Em vista de que na fração F1 estariam presentes enzimas de diferentes classes, os parâmetros pH, temperatura, tempo de reação e concentração de substrato mais adequado para a atividade de cada uma também foi padronizado previamente para permitir a melhor comparação entre as variedades provenientes de condições distintas de cultivo em campo (Apêndice 3).

As atividades enzimáticas das classes das enzimas oxirredutases (PPO, PO e CAT), carboidrases (PG e INV) e liases (PAL) foram determinadas nos extratos enzimáticos das amostras de diferentes variedades de tomates oriundos de cultivo orgânico e convencional e foram expressas como atividades específicas.

3.1 CARBOIDRATOS E ATIVIDADE DE CARBOIDRASES

Os carboidratos solúveis estão relacionados com a ação de carboidrases e a tendência é que ocorra um aumento deles ao longo da maturação do fruto em decorrência da degradação de oligossacarídeos e constituintes de paredes celulares (ANDRIEU et al., 2014; GUILLON et al., 2017). A velocidade destas transformações é uma característica varietal, mas

em condições naturais pode também ser afetada por variáveis abióticas diversas. Neste estudo, a atividade da invertase característica de cada amostra foi avaliada para inferir sobre os efeitos varietais e do cultivo no comportamento dela, que representa, segundo alguns autores, um ponto de controle do estágio climatérico (TAGER; BIALE, 1957). O perfil de açúcares redutores do fruto foi determinado por sua associação com a atividade desta enzima.

Na Tabela 1 estão apresentados os perfis de açúcares das amostras de tomates e a atividade da invertase presente na fração F1.

Tabela 1 - Perfil de açúcares redutores (mg g⁻¹) e atividade da invertase (U mg⁻¹ de proteína) nas amostras de tomate de cultivo convencional e orgânico

Tomate	Glicose	Frutose	Sacarose	INV
Cultivo Convencional				
Caqui	124,0 ^{bA} ± 7,2	196,7 ^{abA} ± 10,7	-	1,6 ^{bA} ± 0,2
Cereja	93,4 ^{cA} ± 6,6	147,8 ^{cA} ± 10,7	-	4,2 ^{aA} ± 0,1
Italiano	136,8 ^{abA} ± 5,2	197,1 ^{abA} ± 6,7	-	1,0 ^{bA} ± 0,04
Cultivo Orgânico				
Caqui	138,7 ^{bA} ± 4,6	207,2 ^{aA} ± 8,0	3,9 ^{aA} ± 0,4	1,1 ^{bA} ± 0,03
Cereja	140,7 ^{aA} ± 4,0	210,0 ^{aA} ± 6,5	2,4 ^{bA} ± 0,1	1,4 ^{bA} ± 0,1
Italiano	140,2 ^{aA} ± 2,0	178,6 ^{bA} ± 4,1	-	1,0 ^{bA} ± 0,2

INV – invertase. Resultados expressos em média, desvio padrão e base seca. Letras minúsculas sobrescritas na mesma coluna indicam diferença estatística entre todas as variedades de tomates independentes do cultivo ($p < 0,05$). Letras maiúsculas subscritas na mesma coluna indicam diferença estatística para cada variedade sob diferentes cultivos ($p < 0,05$). Sacarose (LOQ = 0,1 mg mL⁻¹).

O conteúdo de glicose, frutose e sacarose diferiu entre os frutos analisados. A frutose foi o açúcar predominante, independente da variedade e tipo de cultivo, enquanto a sacarose encontrava-se abaixo do limite de quantificação (0,1 mg mL⁻¹), com exceção das amostras de tomate das variedades Caqui e Cereja oriundos de cultivo orgânico. Um dos fatores que levam a variações do conteúdo de açúcares está relacionado com o estágio de colheita dos frutos, que para fins comerciais é realizada antes que o fruto atinja a maturação completa, o que limita o suprimento de açúcar da planta (BECKLES, 2012). Neste caso esta condição pode estar relacionada aos baixos níveis de sacarose detectados nas amostras.

Nas variedades de tomates provenientes de cultivo orgânico, a atividade da invertase não diferiu dos tomates de cultivo convencional. A variedade Cereja do cultivo convencional foi estatisticamente superior às variedades Caqui e Italiano, nas mesmas condições. Outro fato que se destaca é que o perfil de glicose e frutose indicou que o tomate

Caqui apresentou menor conteúdo desses açúcares, o que pode estar relacionado à alta atividade respiratória da amostra, que não foi determinada neste estudo.

Alguns autores relatam que tomates Cereja, por derivarem de um tipo selvagem diferente do comum (Caqui e Italiano) pode responder melhor as condições da agricultura biológica e isto interfere diretamente no acúmulo de açúcares neste tomate (HALLMANN, 2012). Segundo Pieper e Barrett (2009) o sistema de cultivo, convencional ou orgânico, determina de que forma esses açúcares vão se acumular na fruta, o que não foi observado em nosso estudo.

Existem diferenças varietais que explicam os distintos perfis de açúcares de tomates. Em um estudo semelhante a este, Beckles et al. (2012) apresentaram uma comparação entre tomates de espécies selvagens e modernos, mostrando a diferença nas atividades de invertase e mudanças no acúmulo de açúcares durante o desenvolvimento dos frutos, mencionando que a presença de invertases menos específicas para conversão de sacarose em glicose em frutose promovia o acúmulo de sacarose nos tecidos (FRIDMAN et al., 2004; YELLE et al., 1991, 2016; ZANOR et al., 2009). Possivelmente, nas variedades avaliadas a ação de invertases pouco específicas não foi marcante com indica a não detecção de sacarose em 2 variedades provenientes do cultivo orgânico. Outra possibilidade é que estas duas amostras tenham sido colhidas num estágio de maturação mais adiantado, visto que os frutos, neste tipo de manejo, tendem a apresentar tamanhos menores que os de cultivo convencional, o que permitiu um acúmulo maior de sacarose na planta. Riahi et al. (2009) demonstraram que o sistema de agricultura orgânica promovia um maior acúmulo de açúcares em tomates orgânicos, mas nossos resultados não permitem afirmar que o sistema de cultivo afetou a atividade ou a forma como a invertase regulou o fluxo de açúcares nos tomates amostrados.

O tipo de pectina, principal constituinte da parede primária, da lamela média do pericarpo de frutos e a atividade de um grupo de enzimas pécticas (pectinases), incluindo a pectinaesterase e a poligalacturonase estão envolvidas com a alteração da textura dos frutos. Elas ocasionam a degradação de polissacarídeos durante o amadurecimento, atuando sobre a pectina, despolimerizando ou desesterificando as formas metiladas (ULUISIK; SEYMOUR, 2020). Nestas hidrolases se destacam as poligalacturonases que são as principais responsáveis pela dissolução da lamela média durante a maturação, cuja atividade neste estudo foi indicada pela determinação da liberação de ácido galacturônico. A Tabela 2 apresenta o conteúdo de pectina e a atividade de poligalacturonase nas amostras de tomates estudadas.

Tabela 2 - Conteúdo de pectina (%) e atividade da poligalacturonase (U mg⁻¹ de proteína) nas amostras de tomates de cultivo convencional e orgânico

Tomate	Pectina	PG
Cultivo Convencional		
Caqui	26,2 ^{ba} ± 3,4	5,1,0 ^{ba} ± 7,8
Cereja	43,7 ^{abA} ± 2,6	10,4,1 ^{aA} ± 3,8
Italiano	28,8 ^{abA} ± 2,2	16,2 ^{ba} ± 4,0
Cultivo Orgânico		
Caqui	26,7 ^{ba} ± 12	4,8 ^{ba} ± 2,1
Cereja	48,4 ^{aA} ± 9,5	3,7 ^{ba} ± 4,0
Italiano	31,0 ^{abA} ± 10,3	4,5 ^{ba} ± 5,0

PG – poligalacturonase. Resultados expressos em média e desvio padrão e base seca. Letras sobrescritas minúsculas na mesma coluna indicam diferença estatística entre todas as variedades de tomates independentes do cultivo ($p < 0,05$). Letras maiúsculas subscritas na mesma coluna indicam diferença estatística para cada variedade sob diferentes cultivos ($p < 0,05$).

O amolecimento de frutas está intimamente ligado a remodelação da parede celular e especialmente a degradação da pectina o que confere ao fruto uma textura mais macia, então esperava-se uma relação inversa entre a atividade de poligalacturonase e o conteúdo de pectina total. A atividade desta família de enzimas foi alta, mas não apresentou correlação com o conteúdo de pectina nos frutos. Um exemplo disto foi a amostra de tomate da variedade Cereja proveniente do cultivo orgânico que apresentou uma alta atividade de 10,4 U mg⁻¹ de proteína e alto conteúdo de pectina (43,7 %), devido à sua organização morfológica e estrutural, ou como uma característica metabólica varietal.

Em geral, para prolongar a vida útil de frutas são realizadas modificações genéticas na atividade das poligalacturonases de forma a torná-las menos ativas para prolongar o período de estabilidade da textura do tecido. Isso resulta em um fruto mais firme, o que nem sempre é determinado pelo maior conteúdo de pectina, mas sim de uma combinação do teor total e do teor de metoxilação da pectina (GUILLON et al., 2017). Pressey (1977) foi o primeiro autor a verificar que o aumento na atividade enzimática está acompanhado por um aumento na pectina solúvel em água e no amolecimento da fruta. Com relação ao tipo de cultivo não foi possível afirmar se ele afeta a atividade da poligalacturonase, portanto deve se tratar de uma característica varietal.

A avaliação dos substratos e produtos das carboidrases não permitiu a identificação de um padrão de comportamento relacionado ao manejo da cultura, mas sim pela variedade do fruto, conforme o esperado, estas enzimas estavam relacionadas com o metabolismo primário

do tecido (BECKLES, 2012) e portanto, o efeito do ambiente ou do manejo não é detectável nas suas atividades.

3.2 ENZIMAS OXIDO-REDUTASES

Durante o estágio de amadurecimento o fruto tende a produzir maior quantidade de espécies reativas de oxigênio (ROS), devido ao estresse ocasionado por fatores bióticos (inerentes e ação de patógenos) e abióticos (composição do solo, radiação UV, déficit de irrigação, baixa temperatura, entre outras). No entanto, parte destes danos pode ser contornado pela atividade das enzimas PPO, PO, CAT e PAL que atuam mitigando os efeitos dos radicais livres produzidos sob todos estes fatores. Em vista disso, a atividade de oxido-redutase está associada a resistência de plantas e refletem o estresse oxidativo ao qual o tecido foi submetido ao longo de seu manejo (FLOTT; MOERSCHBACHER; REISNER, 1989; MOHAMMADI; KAZEMI, 2002; PAN et al., 2020). Nas Tabelas 3 e 4 estão os resultados das determinações da atividade das enzimas associadas aos mecanismos de defesa nas amostras de tomate avaliadas.

Tabela 3- Atividade das enzimas oxirredutases (U mg^{-1} proteína) nas amostras de tomates de cultivo convencional e orgânico

Tomate	PPO	PO	CAT
Cultivo Convencional			
Caqui	$28,4^{cA} \pm 3,5$	$57,4^{dA} \pm 7,0$	$123,1^{aA} \pm 8,5$
Cereja	$52,7^{abA} \pm 3,4$	$188,1^{bA} \pm 13,0$	$11,7^{cdA} \pm 4,0$
Italiano	$37,8^{bcA} \pm 2,6$	$139,2^{cA} \pm 6,4$	$68,3^{bA} \pm 3,0$
Cultivo Orgânico			
Caqui	$16,0^{cA} \pm 1,8$	$48,0^{deA} \pm 2,3$	$29,1^{cA} \pm 6,5$
Cereja	$21,1^{cA} \pm 0,8$	$33,0^{eA} \pm 2,4$	$60,3^{bA} \pm 7,0$
Italiano	$76,0^{aA} \pm 0,1$	$363,6^{aA} \pm 13,0$	$11,1^{dA} \pm 7,8$

PPO – polifenoloxidase, PO – peroxidase, CAT – catalase. Resultados expressos em média e desvio padrão. Letras minúsculas subscritas na mesma coluna indicam diferença estatística entre todas as variedades de tomates independentes do cultivo ($p < 0,05$). Letras maiúsculas subscritas na mesma coluna indicam diferença estatística para cada variedade sob diferentes cultivos ($p < 0,05$).

Outros autores relataram que o aumento na atividade da peroxidase em plantas está relacionado a resistência a doenças (MOHAMMADI; KAZEMI, 2002; ZHENG et al., 2017). Seguindo por este caminho, Pan et al. (2020) utilizaram metil jasmonato como elicitador de defesa em kiwis e os resultados mostraram que aumentos nas atividades de CAT e PO conferiam maior resistência a doenças. Num estudo realizado por Abouraïcha et al. (2015) em maçãs foi

constatado que a atividade de CAT e PO aumentaram durante o armazenamento das frutas promovendo a eliminação de feridas, corroborando para o estabelecimento da relação entre capacidade destas enzimas quanto a proteção contra danos oxidativos. Os autores também observaram que a eficiência não está apenas relacionada com a indução de resistência, mas que também estão envolvidas no processo de senescência do fruto. Estes relatos e os resultados verificados permitem inferir que dentre os tomates deste estudo a variedade Italiano de cultivo orgânico possui maior potencial para defesa contra danos do estresse oxidativo e que isto também pode estar associado a não ocorrência de compostos inibidores da ação destas enzimas durante o manejo das plantas.

No entanto, novamente o tipo de cultivo não resultou em diferenças significativas entre as amostras coletadas para estudo. Jin et al. (2011) detectaram que a atividade da catalase foi maior em morangos orgânicos em relação aos convencionais e atribuíram este comportamento ao aumento nos níveis de ROS, possivelmente induzido pelo estresse oxidativo provenientes da baixa disponibilidade mineral em sistemas de cultivo orgânico. Em contraste, Oliveira et al. (2017) não observaram diferenças na atividade de catalase em relação ao cultivo.

A fenilalanina-amônia-liase (PAL) também é uma enzima importante nos mecanismos de resistência de plantas, pois está envolvida em várias vias metabólicas, incluindo a dos fenilpropanoides, a partir dos quais são sintetizados os compostos fenólicos, como a lignina (BARROS; DIXON, 2020). Os resultados da Tabela 4 mostraram que o tomate Italiano de cultivo orgânico apresentou maior atividade da PAL acompanhada de uma maior quantidade de fenilalanina, assim como alta atividade de PPO e PO. Dessa forma, pode se inferir que esta variedade de tomate possui bom potencial de defesa contra danos abióticos e possivelmente bióticos também, bem como refletiu as condições de seu manejo. Portanto, sugerindo que essas enzimas integram o mecanismo de defesa em tomates, poderiam ser usadas para rastreabilidade do tipo de cultivo em tomates da variedade Italiano.

A faixa de variação da atividade desta enzima foi a mais marcante em relação as demais famílias estudadas e entre as amostras coletadas. Em geral, a atividade foi estável em todas as variedades de cultivo convencional e diferiu naquelas de cultivo orgânico. Um ponto interessante é que apenas nos tomates da variedade Italiano submetidos ao cultivo orgânico, esta atividade se destacou como 3 vezes maior em relação aqueles do cultivo convencional. De qualquer forma, em todas as variedades foi verificada uma resposta própria ao manejo da cultura, o que não tornou possível demonstrar nas demais famílias de enzima, trata-se, portanto, de um ponto importante para explorar quando se propõe um marcador para a rastreabilidade de amostras de frutos baseado em enzimas de amadurecimento e defesa.

Tabela 4 - Conteúdo de fenilalanina ($\mu\text{g mg}^{-1}$ proteína) e atividade da fenilalanina-amônia-liase (U mg^{-1} proteína) em tomates de cultivo convencional e orgânico

Tomate	Fenilalanina	PAL
Cultivo Convencional		
Caqui	$90^{\text{bB}} \pm 0,05$	$4,1^{\text{bB}} \pm 0,3$
Cereja	$80^{\text{bB}} \pm 0,1$	$4,1^{\text{bB}} \pm 0,04$
Italiano	$100^{\text{bB}} \pm 0,2$	$4,5^{\text{bB}} \pm 0,6$
Cultivo Orgânico		
Caqui	$30^{\text{cA}} \pm 0,01$	$0,7^{\text{cA}} \pm 1,2$
Cereja	$40^{\text{cA}} \pm 0,02$	$1,0^{\text{cA}} \pm 0,7$
Italiano	$300^{\text{aA}} \pm 0,02$	$14,1^{\text{aA}} \pm 0,1$

PAL – fenilalanina-amônia-liase. Resultados expressos em média e desvio padrão. Letras minúsculas sobrescritas na mesma coluna indicam diferença estatística entre todas as variedades de tomates independentes do cultivo ($p < 0,05$). Letras maiúsculas subscritas na mesma coluna indicam diferença estatística para cada variedade sob diferentes cultivos ($p < 0,05$).

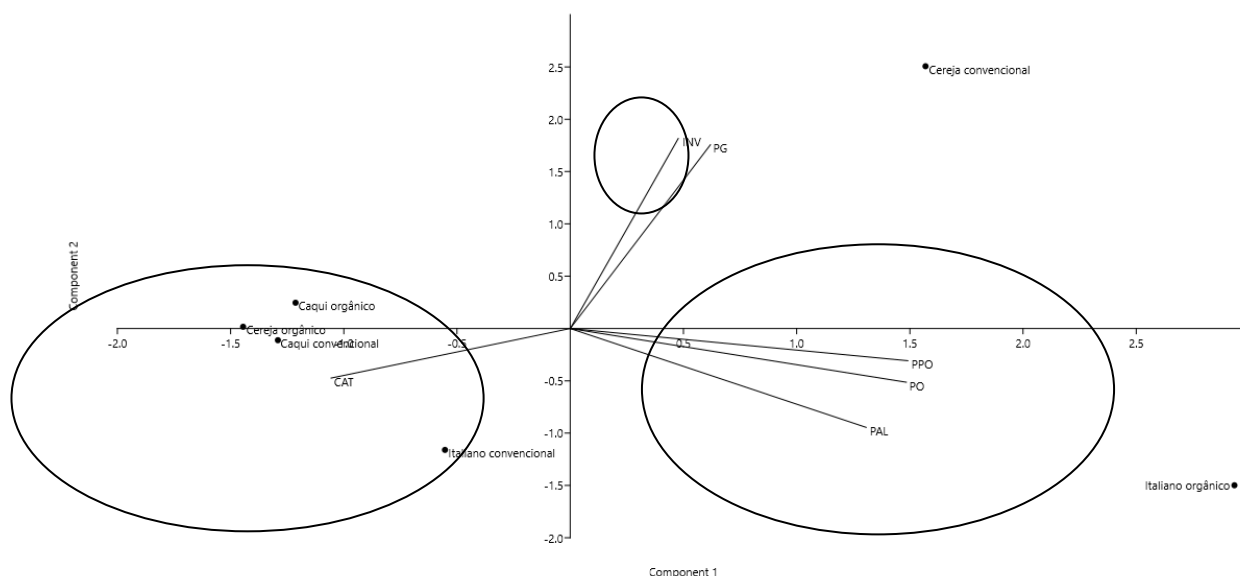
A literatura sugere que a agricultura orgânica, por ser caracterizada pela oposição ao uso de pesticidas e fertilizantes sintéticos, implicaria numa maior exposição da planta a situações de estresse, promovendo a manifestação dos mecanismos naturais de defesa com maior eficiência, visto que alguns insumos químicos atuam como inibidores enzimáticos (ZAHEDIPOUR et al., 2019). No caso desse estudo, a enzima que diferiu foi a que está associada a síntese de compostos fenólicos que participam em diferentes mecanismos de defesa, atuando como barreira física (lignina), antioxidante (fenóis livres e ligados) e antifúngicos (BADIALE FURLONG et al., 2020).

O estudo de Zahedipour et al. (2019), mostrou que a atividade de PAL foi significativamente superior em uvas cultivadas em sistema orgânico, seus resultados descrevem um aumento de até 48% comparado aos convencionais, corroborando com a nossa observação. El Modafar et al. (2012) relataram que o aumento na atividade de PAL e o acúmulo de compostos fenólicos levava a uma resistência sistêmica adquirida pela via do ácido salicílico, reforçando o envolvimento da via dos fenilpropanoides na indução de reações de defesa das plantas. Também tem sido discutido que as enzimas da via fenilpropanoide são reguladas por complexos multienzimáticos organizados. Acredita-se que esta organização aumente a concentração local de enzimas e de seus substratos e com isso, de forma sinérgica, proporcione o aumento da eficiência dos mecanismos de defesa. Um dos fatores que podem explicar a alta atividade da PAL no tomate Italiano do cultivo orgânico como resposta ao manejo.

3.3 RELAÇÕES ENTRE O COMPORTAMENTO DAS ENZIMAS NAS VARIEDADES DE TOMATE.

A Análise de Componentes Principais, PCA (Figura 1) foi aplicada para avaliar a relação entre todas as enzimas determinadas nas diferentes variedades de tomates. Os valores mostraram que o conjunto de dois componentes principais (PCs) representaram 88,5% da variação total, o PC1 explicou 55,3% no conjunto de dados, enquanto o PC2 explicou 33,2% da variação. A atividade de PAL apresentou uma correlação positiva e significativa com a PPO (0,92) e PO (0,94) enquanto que PPO correlacionou-se positivamente com a PO (0,98), da mesma forma que a PG apresentou uma correlação de 0,92 com a INV (Apêndice 3). Estas correlações reforçam que em um fruto maduro a atividade destas enzimas, que determinam as diferentes características de qualidade, atuam sinergisticamente para transformar os substratos acumulados durante a formação da estrutura do fruto.

Figura 1 - PCA das atividades enzimáticas considerando variedade e cultivo das amostras de tomate



A PCA também mostrou que as atividades de INV e a de PG foram as que melhor se correlacionaram na amostra de tomate Cereja convencionalmente cultivado, sugerindo que os frutos estavam com a atividade respiratória mais elevada em relação aos demais, possivelmente ocasionado por causas abióticas, como o período da colheita.

As atividades enzimáticas das enzimas PAL, PO e PPO nas amostras de tomate Italiano do cultivo orgânico estavam mais correlacionadas, indicando que, se o mecanismo de defesa que decorre da atividade destas enzimas foi afetado pelo cultivo e que este representa um estresse para o fruto. Também ficou evidenciando que o cultivo orgânico está relacionado com estes indicadores de defesa visto que, a atividade destas enzimas apresentou correlação negativa com aquelas dos tomates de cultivo convencional.

4 CONCLUSÃO

Cada variedade de tomate apresentou mecanismos bioquímicos característicos e estes não mostram uma tendência definida com relação ao efeito do manejo das culturas, sendo a exceção a atividade da fenilalanina-amônia-liase (PAL). A atividade desta enzima nas amostras de tomate da variedade Italiano diferiu em comportamento e grandeza em resposta ao tipo de cultivo. A PCA mostrou que nesta variedade, as atividades de oxido redutases estavam positivamente correlacionadas com o manejo orgânico. Faixas distintas de atividade da PAL para as variedades podem ser estabelecidas para aplicar este marcador na rastreabilidade de tomates, em especial para a variedade Italiano.

5 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ABOURAÏCHA, E.; EL ALAOUI-TALIBI, Z.; EL BOUTACHFAITI, R.; PETIT, E.; COURTOIS, B.; COURTOIS, J.; EL MODAFAR, C. Induction of natural defense and protection against *Penicillium expansum* and *Botrytis cinerea* in apple fruit in response to bioelicitors isolated from green algae. **Scientia Horticulturae**, v. 181, p. 121–128, 2015.

ANDRADE, C. C. L.; RESENDE, R. S.; RODRIGUES, F. Á.; FERRAZ, H. G. M.; MOREIRA, W. R.; OLIVEIRA, J. R.; MARIANO, R. L. R. Silicon reduces bacterial speck development on tomato leaves. **Tropical Plant Pathology**, v. 38, n. 5, p. 436–442, 2013.

ANDRIEU, M.-H.; BEAUVOIT, B. P.; GIBON, Y.; MAZAT, J.-P.; COLOMBIE, S.; CHENICLET, C.; BENARD, C.; MONIER, A.; BIAIS, B.; NAZARET, C.; DIEUAIDE-NOUBHANI, M. Model-Assisted Analysis of Sugar Metabolism throughout Tomato Fruit Development Reveals Enzyme and Carrier Properties in Relation to Vacuole Expansion. **The Plant Cell**, v. 26, n. 8, p. 3224–3242, 2014.

BADIALE FURLONG, E.; BADIALE FURLONG, V.; KUPSKI, L.; SCAGLIONI, P. T.; DENARDI DE SOUZA, T.; CHRIST-RIBEIRO, A. Use of natural resources from Southern Brazil as a strategy to mitigate fungal contamination. **Critical Reviews in Food Science and Nutrition**, v. 0, n. 0, p. 1–8, 2020.

BARROS, J.; DIXON, R. A. Plant Phenylalanine/Tyrosine Ammonia-lyases. **Trends in Plant Science**, v. 25, n. 1, p. 66–79, 2020.

BECKLES, D. M. Factors affecting the postharvest soluble solids and sugar content of tomato (*Solanum lycopersicum* L.) fruit. **Postharvest Biology and Technology**, v. 63, n. 1, p. 129–140, 2012.

BECKLES, D. M.; HONG, N.; STAMOVA, L.; LUENGWILAI, K. Biochemical factors contributing to tomato fruit sugar content: A review. **Fruits**, v. 67, n. 1, p. 49–64, 2012.

BENACEUR, F.; CHAIBI, R.; BERRABAH, F.; NEIFAR, A.; LEBOUKH, M.; BENACEUR, K.; NOUIOUA, W.; REZZOUG, A.; BOUAZZARA, H.; GOUZI, H.; CABANA, H.; GARGOURI, A. Purification and characterization of latent polyphenol oxidase from truffles (*Terfezia arenaria*). **International Journal of Biological Macromolecules**, v. 145, p. 885–893, 2020.

CARDOSO, P. C.; TOMAZINI, A. P. B.; STRINGHETA, P. C.; RIBEIRO, S. M. R.; PINHEIRO-SANT'ANA, H. M.; HALLMANN, E.; DE OLIVEIRA, A. B.; DE ALMEIDA LOPES, M. M.; MOURA, C. F. H.; DE SIQUEIRA OLIVEIRA, L.; DE SOUZA, K. O.; FILHO, E. G.; URBAN, L.; DE MIRANDA, M. R. A. Effects of organic vs. conventional farming systems on quality and antioxidant metabolism of passion fruit during maturation. **Scientia Horticulturae**, v. 222, p. 84–89, 2017.

CIE. **Colorimetry. Publication CIE 15.2**. 2º ed. 1986.

DENARDI-SOUZA, T.; MASSAROLO, K. C.; TRALAMAZZA, S. M.; BADIALE-FURLONG, E. Monitoreo de la biomasa micótica modificada por *Rhizopus oryzae* en relación con el perfil de aminoácidos y ácidos grasos esenciales de harina de soya (soja), trigo y arroz. **CYTA - Journal of Food**, v. 16, n. 1, p. 156–164, 2018.

DESHMUKH, S. R.; WADEGAONKAR, V. P.; BHAGAT, R. P.; WADEGAONKAR, P. A. Tissue specific expression of Anthraquinones, flavonoids and phenolics in leaf, fruit and root suspension cultures of Indian Mulberry (*Morinda citrifolia* L.). **Plant OMICS**, v. 4, n. 1, p. 6–13, 2011.

FELTRIN, A. C. P.; FONTES, M. R. V.; GRACIA, H. D. K.; BADIALE-FURLONG, E.; GARDA-BUFFON, J. Peroxidase from soybean meal: Obtention, purification and application in reduction of deoxynivalenol levels. **Quimica Nova**, v. 40, n. 8, p. 908–915, 2017.

FLOTT, B. E.; MOERSCHBACHER, B. M.; REISENER, H.-J. Peroxidase isoenzyme patterns of resistant and susceptible wheat leaves following stem rust infection. **New Phytologist**, v. 111, n. 3, p. 413–421, 1989.

FRIDMAN, E.; CARRARI, F.; LIU, Y. S.; FERNIE, A. R.; ZAMIR, D. Zooming in on a quantitative trait for tomato yield using interspecific introgressions. **Science**, v. 305, n. 5691, p. 1786–1789, 2004.

GUILLON, F.; MOÏSE, A.; QUEMENER, B.; BOUCHET, B.; DEVAUX, M. F.; ALVARADO, C.; LAHAYE, M. Remodeling of pectin and hemicelluloses in tomato pericarp

during fruit growth. **Plant Science**, v. 257, p. 48–62, 2017.

HALLMANN, E. The influence of organic and conventional cultivation systems on the nutritional value and content of bioactive compounds in selected tomato types. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, v. 92, n. 14, p. 2840–2848, 2012.

JIN, P.; WANG, S. Y.; WANG, C. Y.; ZHENG, Y. Effect of cultural system and storage temperature on antioxidant capacity and phenolic compounds in strawberries. **Food Chemistry**, v. 124, n. 1, p. 262–270, 2011.

JOHNSTON, D. B.; MCALOON, A. J. Protease increases fermentation rate and ethanol yield in dry-grind ethanol production. **Bioresource Technology**, v. 154, p. 18–25, 2014.

LOWRY, O. H.; ROSEBROUGH, N. J.; FARR, A. L.; RANDALL, R. J. Protein measurement with the Folin phenol reagent. **The journal of biological chemistry**, v. 193, n. 1, p. 265–275, 1951.

MARTÍ, R.; LEIVA-BRONDO, M.; LAHOZ, I.; CAMPILLO, C.; CEBOLLA-CORNEJO, J.; ROSELLÓ, S. Polyphenol and L-ascorbic acid content in tomato as influenced by high lycopene genotypes and organic farming at different environments. **Food Chemistry**, v. 239, p. 148–156, 2018.

MCCREADY, R. M.; MCCOMB, E. A. Extraction and Determination of Total Pectic Materials in Fruits. **Analytical Chemistry**, v. 24, n. 12, p. 1986–1988, 1952.

MODAFAR, C.; ELGADDA, M.; EL BOUTACHFAITI, R.; ABOURAICHA, E.; ZEHHAR, N.; PETIT, E.; EL ALAOU-TALIBI, Z.; COURTOIS, B.; COURTOIS, J. Induction of natural defence accompanied by salicylic acid-dependant systemic acquired resistance in tomato seedlings in response to bioelicitors isolated from green algae. **Scientia Horticulturae**, v. 138, p. 55–63, 2012.

MOHAMMADI, M.; KAZEMI, H. Changes in peroxidase and polyphenol oxidase activities in susceptible and resistant wheat heads inoculated with *Fusarium graminearum* and induced resistance. **Plant Science**, v. 162, n. 4, p. 491–498, 2002.

OLIVEIRA, A. B.; DE ALMEIDA LOPES, M. M.; MOURA, C. F. H.; DE SIQUEIRA OLIVEIRA, L.; DE SOUZA, K. O.; FILHO, E. G.; URBAN, L.; DE MIRANDA, M. R. A. Effects of organic vs. conventional farming systems on quality and antioxidant metabolism of passion fruit during maturation. **Scientia Horticulturae**, v. 222, p. 84–89, 2017.

PAN, L.; ZHAO, X.; CHEN, M.; FU, Y.; XIANG, M.; CHEN, J. Effect of exogenous methyl jasmonate treatment on disease resistance of postharvest kiwifruit. **Food Chemistry**, v. 305, p. 125483, 2020.

PIEPER, J. R.; BARRETT, D. M. Effects of organic and conventional production systems on quality and nutritional parameters of processing tomatoes. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, v. 89, n. 2, p. 177–194, 2009.

PRESSEY, R. Enzymes Involved in Fruit Softening. **Agricultural research services**, p. 172–191, 1977.

RIAH, A.; HDIDER, C.; SANAA, M.; TARCHOUN, N.; KHEDER, M. Ben; GUEZAL, I. Effect of conventional and organic production systems on the yield and quality of field tomato cultivars grown in Tunisia. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, v. 89, n. 13, p. 2275–2282, 2009.

RODRÍGUEZ-FERNÁNDEZ, D. E.; RODRÍGUEZ-LEÓN, J. A.; DE CARVALHO, J. C.; STURM, W.; SOCCOL, C. R. The behavior of kinetic parameters in production of pectinase and xylanase by solid-state fermentation. **Bioresource Technology**, v. 102, n. 22, p. 10657–10662, 2011.

SEUFERT, V.; RAMANKUTTY, N.; FOLEY, J. A. Comparing the yields of organic and conventional agriculture. **Nature**, v. 485, n. 7397, p. 229–232, 2012.

SHADLE, G. L.; WESLEY, S. V.; KORTH, K. L.; CHEN, F.; LAMB, C.; DIXON, R. A. Phenylpropanoid compounds and disease resistance in transgenic tobacco with altered expression of L-phenylalanine ammonia-lyase. **Phytochemistry**, v. 64, n. 1, p. 153–161, 2003.

SOARES, A. de S.; AUGUSTO, P. E. D.; LEITE JÚNIOR, B. R. de C.; NOGUEIRA, C. A.; VIEIRA, É. N. R.; DE BARROS, F. A. R.; STRINGHETA, P. C.; RAMOS, A. M. Ultrasound assisted enzymatic hydrolysis of sucrose catalyzed by invertase: Investigation on substrate, enzyme and kinetics parameters. **Lwt**, v. 107, p. 164–170, 2019.

TAGER, J. M.; BIALE, J. B. Carboxylase and aldolase activity in the ripening banana. **Plant Physiology**, v. 10, p. 79–85, 1957.

ULUISIK, S.; SEYMOUR, G. B. Pectate lyases: Their role in plants and importance in fruit ripening. **Food Chemistry**, v. 309, p. 125559, 2020.

VINHA, A. F.; BARREIRA, S.; COSTA, A. S. G.; ALVES, R. C.; A, M. B. P. P. O. Organic versus conventional tomatoes: Influence on physicochemical parameters, bioactive compounds and sensorial attributes. **Food and Chemical Toxicology**, v. 67, p. 139–144, 2014.

YELLE, S.; CHETELAT, R. T.; DORAIS, M.; DEVERNA, J. W.; BENNETT, A. B. Sink Metabolism in Tomato Fruit. **Plant Physiology**, v. 95, n. 4, p. 1026–1035, 1991.

YELLE, S.; HEWITT, J. D.; ROBINSON, N. L.; DAMON, S.; ALAN, B.; YELLE, S.; HEWITT, J. D.; ROBINSON, N. L.; DAMON, S.; BENNETT, A. B. Sink Metabolism in Tomato Fruit : III . Analysis of Carbohydrate Assimilation in a Wild Species Published by : **American Society of Plant Biologists (ASPB)**, v. 87, n. 3, p. 737–740, 2016.

ZAHEDIPOUR, P.; ASGHARI, M.; ABDOLLAHI, B.; ALIZADEH, M.; DANESH, Y. R. A comparative study on quality attributes and physiological responses of organic and conventionally grown table grapes during cold storage. **Scientia Horticulturae**, v. 247, p. 86–95, 2019.

ZANOR, M. I.; OSORIO, S.; NUNES-NESI, A.; CARRARI, F.; LOHSE, M.; USADEL, B.; KÜHN, C.; BLEISS, W.; GIAVALISCO, P.; WILLMITZER, L.; SULPICE, R.; ZHOU, Y. H.; FERNIE, A. R. RNA interference of LIN5 in tomato confirms its role in controlling brix

content, uncovers the influence of sugars on the levels of fruit hormones, and demonstrates the importance of sucrose cleavage for normal fruit development and fertility. **Plant Physiology**, v. 150, n. 3, p. 1204–1218, 2009.

ZHENG, F.; ZHENG, W.; LI, L.; PAN, S.; LIU, M.; ZHANG, W.; LIU, H.; ZHU, C. Chitosan Controls Postharvest Decay and Elicits Defense Response in Kiwifruit. **Food and Bioprocess Technology**, v. 10, n. 11, p. 1937–1945, 2017.

**ARTIGO III – ATIVIDADE ANTIFÚNGICA DE EXTRATOS FENÓLICOS DE
TOMATES DE CULTIVO ORGÂNICO E CONVENCIONAL**

ATIVIDADE ANTIFÚNGICA DE EXTRATOS FENÓLICOS DE TOMATES DE CULTIVO ORGÂNICO E CONVENCIONAL

RESUMO

Doenças fúngicas são reconhecidas como a principal causa da decomposição de frutas durante o armazenamento e transporte, isto é principalmente causado por espécies de fungos *Penicillium*, *Botrytis*, *Aspergillus* e *Alternaria*. Estudos já mostraram resultados promissores na utilização de compostos fenólicos como uma medida para controle de contaminação por esses micro-organismos. Em vista disso, o objetivo deste estudo foi verificar o efeito de compostos fenólicos extraídos de tomates de diferentes variedades e cultivo contra cepas de *Penicillium expansum*, *Penicillium verrucosum* e *Aspergillus ochraceus* de forma a contribuir com a tomada de medidas de mitigação da contaminação usando técnicas amigáveis. Foram determinados os compostos fenólicos livres e os aminoácidos de defesa presentes nos tomates. A atividade antifúngica foi realizada por ensaio em microplacas e a concentração mínima inibitória (MIC) e a concentração fungicida mínima (MFC) foram determinadas. Os extratos fenólicos dos tomates de cultivo convencional apresentaram melhores inibições contra os fungos e essa inibição pode ser explicada pela presença do ácido cafeico nesses tomates. As variedades de tomates mostraram repostas semelhantes com relação a atividade antifúngica. Os aminoácidos prolina e cisteína diferiram conforme o manejo e, portanto, podem ser usadas como marcadores de cultivo.

Palavras-chave: Ácido cafeico. cisteína, prolina. *Aspergillus ochraceus*. *Penicillium expansum*. *Penicillium verrucosum*.

1 INTRODUÇÃO

Os frutos são susceptíveis a doenças no campo, no pós-colheita e durante o armazenamento, em consequência de sua composição rica em carboidratos e água livre (COLMÁN et al., 2018). Danos físicos, como cortes e feridas, durante a colheita, embalagem, transporte e armazenamento facilitam a entrada de patógenos. Entre os patógenos que contaminam estes tecidos estão os fungos, principalmente espécies de *Penicillium*, *Botrytis*, *Aspergillus* e *Alternaria* que além de promoverem a degradação do tecido podem ser produtores de micotoxinas (HERNÁNDEZ et al., 2021).

Para gerenciamento de doenças e infecções fúngicas vem sendo empregados: o melhoramento genético (KRISHNA et al., 2021), a estimulação dos mecanismos naturais de defesa (EL-SAMAWATY et al., 2021), o manejo das culturas (AWAN; SHOAIB; KHAN, 2019) e, o mais empregado, o controle químico com fungicidas sintéticos (MARZOUG et al., 2011). O impacto adverso do emprego de pesticidas na saúde humana e no meio ambiente vem

sendo frequentemente demonstrado, o que tem motivado a busca por estratégias amigáveis para reduzir o emprego de pesticidas para mitigar as perdas por ataque de patógenos nas diferentes etapas da cadeia produtiva.

O efeito antioxidante e antimicrobiano de compostos fenólicos presentes em matrizes alimentares tem se mostrado promissor para prevenir a contaminação fúngica em suas fontes originais, para aplicação como conservadores em diferentes etapas da cadeia produtiva. (CHRIST-RIBEIRO et al., 2019; SCAGLIONI et al., 2018, 2019b; TELLES; KUPSKI; FURLONG, 2017). O cultivo orgânico vem sendo uma prática que tem sido estimulada por ser sustentável e por propiciar maior aporte destes compostos bioativos, porém os resultados, comparativamente aos do sistema convencional, tem sido controversos (CARRILLO et al., 2019; CUNHA et al., 2014; MARTÍ et al., 2018).

O tomate (*Solanum lycopersicum*), um fruto de destaque nas cadeias agroindustriais, é bastante susceptível a contaminação fúngica. Por isso, durante o manejo de sua cultura são empregados diversos pesticidas, cujos resíduos são frequentemente detectados nele e seus produtos (DOS SANTOS et al., 2019). Embora este fruto possua alegação de funcionalidade por sua riqueza em compostos bioativos (fenilpropanoides e outros) pouco se tem explorado quanto à relação entre estes e o potencial natural de defesa contra a contaminação micotoxicológica.

Dentre os possíveis contaminantes fúngicos em tomates encontram-se espécies toxigênicas como o *Penicillium expansum* (PERRE et al., 2015). Ele é conhecido como mofo azul que torna o produto inaceitável, além de produzir a micotoxina patulina (CUNHA et al., 2014; HE et al., 2019). Outra espécie do mesmo gênero, *Penicillium verrucosum* está associado a doenças em frutas secas, uvas e vinhos, bem como a produção de micotoxinas como a ocratoxina A (ORTIZ DE ELGUEA-CULEBRAS et al., 2016). Outro fungo, produtor de ocratoxina A, é o *Aspergillus ochraceus*, contaminante frequente em diversos produtos agrícolas, como cereais, café, cacau e frutas (MENG et al., 2020). Relatos de micotoxinas de *Alternaria* em tomates são bastante comuns (BERARDIS et al., 2018; DONG et al., 2019).

Embora os teores de compostos fenólicos nos tomates mereçam destaque em relação a outras fontes (RODRIGUES et al., 2021) os efeitos protetores contra danos patológicos são determinados pelo perfil e não pelas concentrações totais deles. A sua ação antimicrobiana decorre da inviabilização das células fúngicas, reduzindo a permeabilidade, a comunicação, a manifestação genética e a atividade respiratória (ORTIZ DE ELGUEA-CULEBRAS et al., 2016). Também relacionados com as estratégias de defesa natural estão alguns aminoácidos (ácido glutâmico, prolina, cisteína e arginina) importantes para a defesa do

tecido porque participam na sinalização e nas vias de formação de compostos fenólicos (JIN et al., 2019; YANG et al., 2020).

No entanto, apesar da importância do consumo de tomates por serem ricos em compostos bioativos, em especial os compostos fenólicos e aminoácidos associados, estes vem sendo pouco explorados para o estabelecimento de técnicas menos danosas a saúde humana e ao meio ambiente. Assim, para preencher esta lacuna foi objetivo deste estudo avaliar o efeito de extratos fenólicos e conteúdo de ácido glutâmico, prolina, cisteína e arginina em tomates de variedades comerciais provenientes de cultivo convencional e orgânico contra cepas de *Penicillium expansum*, *Penicillium verrucosum* e *Aspergillus ochraceus*, visando contribuir para a tomada de medidas de mitigação da contaminação micotoxicológica usando técnicas amigáveis no manejo das culturas deste fruto.

2 MATERIAL E MÉTODOS

2.1 AMOSTRAS E COMPOSIÇÃO DOS TOMATES

Tomates das variedades Caqui, Cereja, Italiano, Longa Vida foram cultivados em condições de campo no sul do Brasil. As amostras foram coletadas aleatoriamente a cada dois meses durante o ano de 2019. Um quilo de cada variedade de fruta foi escolhido por tamanho, cor e textura em mercados onde havia grande rotação de produtos. Os tomates cultivados em sistema de cultivo orgânico possuíam o selo de certificação do Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (MAPA), obedecendo aos mesmos critérios dos anteriores para a coleta. A uniformidade das amostras analíticas, em termos de maturação foi determinada pela relação açúcar/ácido, enquanto os parâmetros de cor foram determinados por colorimetria (RODRIGUES et al., 2021). Tomates inteiros foram fragmentados, liofilizados (liofilizador Liotop, Modelo L101) e armazenados a - 4 ° C até a realização dos experimentos.

O tomate Longa Vida por ser cultivado apenas no modo convencional foi utilizado como referência para a análise dos demais.

2.1.1 Determinação de compostos fenólicos

Os compostos fenólicos foram extraídos e identificados pelo método proposto por Scaglioni et al. (2014) com adaptações. Quinhentos mg de amostra liofilizada foram homogeneizados com 20 mL de etanol 80% em um agitador horizontal por 10 min. O extrato

foi filtrado pelo papel filtro Whatman nº 4 e o volume foi aferido até 25 mL com etanol 80%. O teor de fenóis solúveis em etanol foi determinado pela reação de oxido redução com o reagente Folin-Ciocalteu. O cromóforo reduzido foi quantificado em espectrofotômetro a 750 nm; sendo a concentração estimada por uma curva padrão de ácido gálico (de 0 a 25 $\mu\text{g mL}^{-1}$). O perfil de ácidos fenólicos foi determinado em HPLC (Shimadzu, Tóquio, Japão, CLASS-M10A) acoplado com um detector DAD e coluna C_{18} (4,6 $\times$ 250 mm, 5 mgs; Discovery, EUA). A vazão de eluição foi de 0,7 $\text{mL}\cdot\text{min}^{-1}$ a 35 °C com o uso de metanol e água acidificada (ácido acético de 1%) como fase móvel na razão de 20 : 80 (v/v) para 25 min; a absorção foi determinada em 280 e 320 nm (SCAGLIONI et al., 2014). Os ácidos fenólicos foram identificados em comparação com o tempo de retenção dos padrões de referência obtidos de Sigma Aldrich: ácido cafeico, clorogênico, p-cumarico, ferúlico, gálico, p-hidroxibenzoico, protocatecoico, siríngico e ácido vanílico. A quantificação dos ácidos fenólicos foi realizada usando as curvas analíticas individuais de cada composto.

A determinação dos flavonoides foi realizada pelo método proposto por Santos-Buelga et al. (2012) com adaptações. A mistura foi analisada em HPLC (Shimadzu, Tóquio, Japão, CLASS-M10A) acoplado a detector DAD e coluna C_{18} 100 Kromasil 5 μm (4,6 $\times$ 150 mm), operada a uma vazão de 0,8 $\text{mL}\cdot\text{min}^{-1}$ a 35 °C, fase móvel constituída de água acidificada (A) (ácido fórmico 0,1%) e acetonitrila (B) em gradiente. A corrida cromatográfica foi de 30 min e os sinais de absorção foram determinados em 320 e 370 nm. A identificação e quantificação foram realizadas por comparação do tempo de retenção e da curva analítica de catequina, quercetina e rutina (Sigma Aldrich) respectivamente.

2.1.2 Determinação de aminoácidos

Os padrões de aminoácidos (Sigma Aldrich) usados foram ácido glutâmico, prolina, cisteína, fenilalanina e arginina. Foi preparado uma solução estoque de padrões, composta por 9,8 g de citrato de sódio dihidratado, 8 mL de ácido perclórico 60% e 480 mL de água ultrapura (pH 2,2) e a massa de aminoácidos era tomada para que a solução tivesse a a concentração de 3 $\mu\text{mol}\cdot\text{mL}^{-1}$.

Foram pesadas 0,02 g de tomate liofilizado e adicionado 2,5 mL de ácido clorídrico 6 M, a mistura foi mantida em autoclave (100 °C e 1 atm) durante 8 min. O material hidrolisado foi filtrado em filtro de celulose 0,45 μm e colocado em banho de areia a 110 °C até completa evaporação do ácido. Foram realizadas 5 lavagens com 5 mL de água ultrapura e deixado

evaporar em banho de areia. O resíduo seco foi ressuspensão em 25 mL com água ultrapura e injetado em HPLC-FL.

Os aminoácidos foram identificados e quantificados em HPLC-FL (Shimadzu, LC-20AD, Tóquio, Japão) acoplado a derivatizador pós-coluna e coluna Shim-pack Amino-Na (100 mm × 6 mm). A eluição foi realizada em corrida de 45 minutos no modo gradiente com as soluções A (tampão ácido cítrico 0,2 M pH 3,2), solução B (ácido cítrico, ácido bórico e hidróxido de sódio 0,2 M pH 10) e solução C (hidróxido de sódio 0,2 M). O gradiente de eluição utilizado foi o seguinte: 0-9 min 100% de A; 9-13 min 93% de A e 7% de B; 13-17,2 min 92% A e 8%B; 17,21-20,80 min 89% A e 11% B; 20,8-20,81 min 50% A e 50% B; 20,81-22 min 42% A e 58% B; 22-22,01 min 85% B; 22,01-29,3 85% B; 29,31-33 min 100% C; 33-35 min 0% C; 35-36,5 min 0,6 mLmin⁻¹; 36,5-43,30 min 0,7 mL min⁻¹; 43,30-44 min 0,6 mL min⁻¹. A derivatização pós-coluna foi realizada com solução tampão contendo carbonato de sódio (0,384 M), ácido bórico (0,216 M) e sulfato de potássio (0,108 M). Essa solução foi dividida em duas partes, em uma foi adicionada 1% hipoclorito de sódio e na outra N-acetil-L-cisteína e ortoftalaldeído. Os comprimentos de onda para detecção foram de 350 nm para excitação e 450 nm para emissão. A identificação de aminoácidos foi realizada comparando os tempos de retenção com padrões e quantificação em curva analítica para cada aminoácido. Foram determinados os limites de detecção (LOD) e quantificação (LOQ) para cada padrão de aminoácido (DENARDI-SOUZA et al., 2018).

2.2 AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE ANTIFÚNGICA

A inibição fúngica foi avaliada pela ação do extrato fenólico sobre os fungos *Penicillium expansum*, *Penicillium verrucosum* e *Aspergillus ochraceus*. Os esporos fúngicos foram estriados nas placas contendo 25 mL de ágar batata dextrose (PDA) e foram adicionados 50 µL de extrato fenólico nas placas onde eram realizados os experimentos de atividade antifúngica. As placas foram mantidas a 25 °C por 72 h, após foi realizada a medida do diâmetro do halo de inibição, considerando positivos para a atividade antifúngica os halos maiores que 15mm. O mesmo experimento foi realizado em um controle o qual foi adicionado 50 µL de uma solução de etanol 80% (DENARDI-SOUZA et al., 2018a).

2.3 DETERMINAÇÃO DA CONCENTRAÇÃO INIBITÓRIA MÍNIMA (do inglês Minimal Inhibitory Concentration - MIC) E CONCENTRAÇÃO FUNGICIDA MÍNIMA (do inglês Minimal Fungicide Concentration -MFC)

O ensaio foi realizado em microplacas estéreis de 96 poços, onde um volume de 100 μL de extrato fenólico (em etanol) em concentrações variando entre 6 a 12 $\mu\text{g mL}^{-1}$ foram adicionados. Cada poço foi inoculado com 100 μL de suspensão de 5×10^4 esporos mL^{-1} em caldo batata dextrose (PDB). No controle negativo foi adicionado suspensão de esporos sem qualquer tratamento. As placas foram incubadas a 25 °C por 72 h. A MIC foi definida como a concentração mais baixa do extrato fenólico, onde os fungos não mostram qualquer crescimento sob observação visual. Após obtenção do MIC, quatro repetições de cada microensaio foram realizados. A MFC corresponde a menor concentração de extrato em que o crescimento da subcultura foi evitada e foi determinada após estimativa do MIC, a diluição correspondente ao MIC foi subcultivada em placas de PDA. Após 72 h de incubação a 25°C, o resultado de MFC obtido (DENARDI-SOUZA et al., 2018a).

2.4 ANÁLISE ESTATÍSTICA

A Análise de Variância ANOVA foi aplicada aos resultados de compostos fenólicos, aminoácidos e atividade antifúngica, seguida pelo teste de Tukey, com 95% de confiança entre variedades de tomate e modo de cultivo. A análise foi realizada pelo programa Statística 7.

3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

3.1 COMPOSTOS FENÓLICOS

Os compostos fenólicos são metabólitos secundários produzidos como agentes de defesa da fruta cujo conteúdo e perfil num tecido vegetal é afetado por variáveis bióticas (variedade) e abióticas (manejo da cultura). O conteúdo de compostos fenólicos das variedades de tomate cultivados no modo convencional e orgânico estão na Tabela 1.

Não foi identificada variação significativa entre os cultivos, mas em relação a variedade o conteúdo fenólico do tomate Italiano convencional e orgânico diferiu significativamente dos demais, isso mostra que apesar de submetidos a diferentes cultivos uma

variedade específica pode se destacar dos demais. Alguns autores que estudaram diferentes variedades de tomates já demonstraram isso em suas pesquisas, Coyago-Cruz et al. (2017) relataram que os tomates da variedade Cereja (Sumerbrix e San Marzano) possuíam $3,5 \text{ mg.g}^{-1}$ de compostos fenólicos e para tomates da variedade “Daniella” $2,8 \text{ mg.g}^{-1}$; Vinha et al. (2014) evidenciaram em tomates de cultivar “Redondo” $2,8 \text{ mg.g}^{-1}$ de compostos fenólicos e Cortés-Olmos et al. (2014) obtiveram uma faixa de 0,3 a $0,8 \text{ mg.g}^{-1}$ para 16 variedades de tomates tipicamente consumidos na Espanha. Estas informações corroboram com a hipótese de que a característica varietal interfere no conteúdo fenólico.

Tabela 1 - Compostos fenólicos solúveis em etanol (mg.g^{-1}) e o perfil de ácidos fenólicos e flavonoides ($\mu\text{g.g}^{-1}$) presentes nos tomates de cultivo convencional e orgânico

Tomate	Fenois	Cafeico	Clorogênico	Protocateicoico	Siríngico	Quercetina	Rutina
Cultivo Convencional							
Caqui	24,3 ^{ab}	4,2	5,4	4,2	-	18,8	36,7
Cereja	24,6 ^{ab}	4,0	42,3	68,0	-	56,7	33,8
Italiano	21,0 ^b	4,0	5,1	12,2	-	-	13,8
Longa Vida	26,5 ^{ab}	5,0	23,1	59,4	-	40,0	12,1
Cultivo Orgânico							
Caqui	27,7 ^{ab}	-	25,0	61,5	-	-	77,8
Cereja	31,2 ^a	-	231,4	66,0	22,0	74,6	120,5
Italiano	30,4 ^a	-	23,2	65,2	-	37,0	12,8

<LOD = Abaixo do limite de detecção (ácido cumárico, ferúlico, gálico, hidroxibenzoico, vanílico e catequina). Cafeico, clorogenico, p-cumarico, p-hidroxibenzoico, protocateicoico, vanílico, quercetina, rutina (LOD = $1,5 \text{ ng.mL}^{-1}$); ferúlico, siríngico (LOD = $3,0 \text{ ng.mL}^{-1}$); gálico (LOD = $6,0 \text{ ng.mL}^{-1}$); catequina (LOD = $9,0 \text{ ng.mL}^{-1}$).

Uma relação entre conteúdo fenólico e capacidade de resistência em tomates foi observada por Awan, Shoaib e Khan (2019), os tomates que estavam inoculados com esporos de *Alternaria solani* apresentaram um aumento significativo de 45-80% em tomates classificados como altamente resistentes e um aumento de 35-42% em tomates classificados como resistentes em comparação com o seu controle. Mas, além disso, realizar a identificação de diferentes ácidos fenólicos e flavonoides é imprescindível para relacionar o perfil dessas substâncias com a capacidade antifúngica (CHRIST-RIBEIRO et al., 2019; SCAGLIONI et al., 2019; SILVA et al., 2019).

Martins et al. (2015), destacaram as capacidades antifúngicas do ácido cafeico, ácido clorogênico e ácido gálico contra algumas espécies de *Candida* e a atividade antifúngica

dos flavonoides, hesperidina e naringina, extraídos de frutas cítricas contra o crescimento de *Aspergillus*, *Fusarium* e *Penicillium* foi constada por Salas et al. (2016).

No perfil de ácidos fenólicos e flavonoides dos tomates em estudo, o primeiro ponto a se observar é que o cultivo interfere nas proporções deles comparando as mesmas variedades provenientes de diferentes manejos no campo. O ácido cafeico estava abaixo do limite de detecção nas amostras de tomate orgânico.

O tomate Cereja proveniente do cultivo orgânico apresentou 10 vezes mais ácido clorogênico que os outros tomates e é o único tomate que possui ácido sirínico. Com relação aos flavonoides, a catequina não foi detectada em nenhum tomate e quercetina e rutina estavam presentes em maiores quantidades no tomate Cereja orgânico, apresentando $74,6 \mu\text{g.g}^{-1}$ e $120,5 \mu\text{g.g}^{-1}$, respectivamente. Os ácidos clorogênico, protocatecoico e rutina apresentaram diferenças com relação ao cultivo, sugerindo que estes poderiam ser usados como marcadores de cultivo.

Neste estudo o conteúdo fenólico e o perfil fenólico foram diferentes quando comparadas com os outros autores, como Coyago-Cruz et al. (2017) que observaram que o ácido hidroxibenzoico e quercetina estavam presentes em maiores quantidades em todas as variedades de tomates estudadas e Choi et al. (2014) que relataram que o flavonoide naringenina estava em destaque no seu estudo. Além das diferenças varietais a escolha do solvente extrator também pode influenciar no perfil fenólico, cabendo salientar que os autores citados utilizaram metanol como solvente extrator, diferente deste estudo onde foi utilizado o etanol. Ácidos fenólicos ocorrem na natureza sob a forma insolúvel ou ligada, enquanto que flavonoides estão presentes de forma conjugada (ligadas a açúcares) e ao utilizar etanol na extração tem-se uma tendência em aumentar a extração destes que estão sob a forma conjugada (ACOSTA-ESTRADA; GUTIÉRREZ-URIBE; SERNA-SALDÍVAR, 2014).

3.2 PERFIL DE AMINOÁCIDOS

Para se adaptar às condições de estresse, um dos mecanismos que as plantas utilizam é a síntese de aminoácidos como prolina, ácido glutâmico, cisteína e arginina, por este motivo este estudo buscou avaliar também o conteúdo destes aminoácidos nos tomates (Tabela 2). Os aminoácidos podem ter participação ativa, juntamente com os compostos fenólicos, na inibição fúngica. Dessa maneira, atuam de forma complementar no mecanismo de defesa, o que reforça a importância de compreender seu papel no sistema de cultivo.

A fenilalanina é o aminoácido derivado da via do ácido chiquímico e atua como precursora da síntese de compostos fenólicos (ALFOSEA-SIMÓN et al., 2020). Neste estudo, o conteúdo de fenilalanina não diferiu entre os cultivos e nem entre as variedades.

O ácido glutâmico possui o papel na sinalização de defesa e participa da síntese de outros aminoácidos como a arginina e prolina (JIN et al., 2019) foi o que apresentou as menores concentrações em relação aos demais aminoácidos relacionados a defesa natural nas plantas. Seus teores não diferiram com relação a variedade nem cultivo. Os níveis de arginina não diferiram em função dos cultivos e seus maiores teores foram detectados nos tomates da variedade Italiano cultivados sob manejo convencional ($6,2 \mu\text{g g}^{-1}$) e Cereja do manejo orgânico ($5,2 \mu\text{g g}^{-1}$).

Tabela 2 - Perfil de aminoácidos ($\mu\text{g g}^{-1}$) presentes nos tomates de cultivo convencional e orgânico

Tomate	Ácido glutâmico	Prolina	Cisteína	Fenilalanina	Arginina
Cultivo Convencional					
Caqui	$0,7^a \pm 0,02$	$9,2^a \pm 5,1$	$16,1^a \pm 9,0$	$1,7^a \pm 0,06$	$3,7^{ab} \pm 1,5$
Cereja	$0,7^a \pm 0,02$	$3,7^b \pm 0,3$	$12,3^{ab} \pm 3,5$	$1,5^a \pm 0,1$	$3,1^{ab} \pm 1,8$
Italiano	$0,7^a \pm 0,01$	$2,4^b \pm 0,1$	$9,4^{ab} \pm 0,9$	$1,7^a \pm 0,2$	$6,2^a \pm 0,2$
Longa Vida	$0,7^a \pm 0,06$	$2,3^b \pm 0,1$	$10,0^{ab} \pm 0,4$	$1,6^a \pm 0,1$	$4,5^{ab} \pm 1,7$
Cultivo Orgânico					
Caqui	$0,6^a \pm 0,02$	-	$1,4^c \pm 0,2$	$1,6^a \pm 0,01$	$3,4^{ab} \pm 1,1$
Cereja	$0,7^a \pm 0,05$	-	$1,8^c \pm 0,05$	$1,7^a \pm 0,02$	$5,2^a \pm 0,7$
Italiano	$0,6^a \pm 0,05$	$1,7^b \pm 0,6$	$11,7^{ab} \pm 0,3$	$1,6^a \pm 0,02$	$1,7^b \pm 0,4$

Resultados expressos em média e desvio padrão. Letras subscritas na mesma coluna indicam diferença entre variedade e cultivo ($p < 0,05$). Prolina ($\text{LOD} = 0,1 \mu\text{g mL}^{-1}$).

A prolina é um aminoácido que desempenha o papel na regulação osmótica celular e na mitigação dos danos das espécies reativas de oxigênio (ROS) (LIMA et al., 2019). A demonstração de seu papel na regulação osmótica em tomates é o aumento dos seus níveis em função do estresse salino (ALFOSEA-SIMÓN et al., 2020) e por isto pode ser usada como um indicador negativo de tolerância a salinidade. De forma similar ao estresse salino a contaminação fúngica pode representar uma alteração na osmolaridade celular, pois o fungo contaminante hidrolisa os carboidratos das paredes celulares para seu desenvolvimento (HEIDTEMANN-BEMVENUTI et al., 2016), assim elevados teores de prolina sugerem que o fruto pode possuir melhor capacidade de resistir aos danos osmóticos provenientes do ataque de patógenos. Neste estudo os tomates de cultivo convencional apresentaram maior conteúdo

de prolina, indicando, portanto, que estes seriam os mais resistentes a variação osmótica. Nos tomates das variedades Caqui e Cereja submetidos ao cultivo orgânico, a prolina estava abaixo dos limites de detecção do método, isto sugere que estas variedades podem ser mais susceptíveis ao ataque fúngico ou que utilizam outros mecanismos para inibição de patógenos.

A cisteína pode estar envolvida na sinalização de doenças em plantas e participa da síntese de compostos que contém enxofre em sua estrutura, como as fitoalexinas. O conteúdo de cisteína pode estar correlacionado com a resistência das plantas e com respostas de hipersensibilidade ao estresse biótico decorrente da contaminação fúngica (ROBLIN et al., 2018) e mais resistentes ao estresse. Nas amostras estudadas, este aminoácido foi o mais abundante e as exceções novamente foram aquelas das variedades Caqui e Cereja de cultivo orgânico.

As diferenças observadas nos teores de prolina e cisteína nos tomates Caqui e Cereja do cultivo orgânico são potenciais marcadores do tipo de cultivo e os níveis deles podem ser úteis, junto com outros compostos, para a rastreabilidade de tomates disponíveis no comércio.

3.3 ATIVIDADE ANTIFÚNGICA, MIC E MFC DOS EXTRATOS FENÓLICOS DE TOMATES DE CULTIVO ORGÂNICO E CONVENCIONAL

Partindo do fato de que os perfis dos aminoácidos de defesa das amostras de tomate não mostraram uma diferença marcante entre as variedades, mas sim em relação ao cultivo e que estes são sinalizadores para o desencadeamento da síntese de compostos de defesa, como os fenóis, os extratos deles foram escolhidos para serem avaliados quanto aos seus potenciais de inibição do crescimento fúngico. O efeito antifúngico de compostos fenólicos já têm sido demonstrado por diferentes autores que também enfatizaram que este é determinado pelo perfil fenólico (CHRIST-RIBEIRO et al., 2019; SCAGLIONI et al., 2019a; SILVA; SOUZA; BADIALE-FURLONG, 2020; TELLES; KUPSKI; FURLONG, 2017). No caso deste estudo foram avaliados quanto a capacidade de inibir o desenvolvimento das espécies toxigênicas de *Penicillium* e *Aspergillus* para inferir sobre o papel destes compostos na resistência dos frutos a estes patógenos.

O primeiro indicativo da atividade antifúngica dos extratos foi o diâmetro do halo de inibição do fungo (Figura 1). Todos os halos foram maiores que 15 mm (Tabela 3), o que indicou que os extratos possuem capacidade de inibir o desenvolvimento fúngico. Os diâmetros dos halos de inibição promovidos pelos extratos fenólicos das variedades Caqui, Cereja e

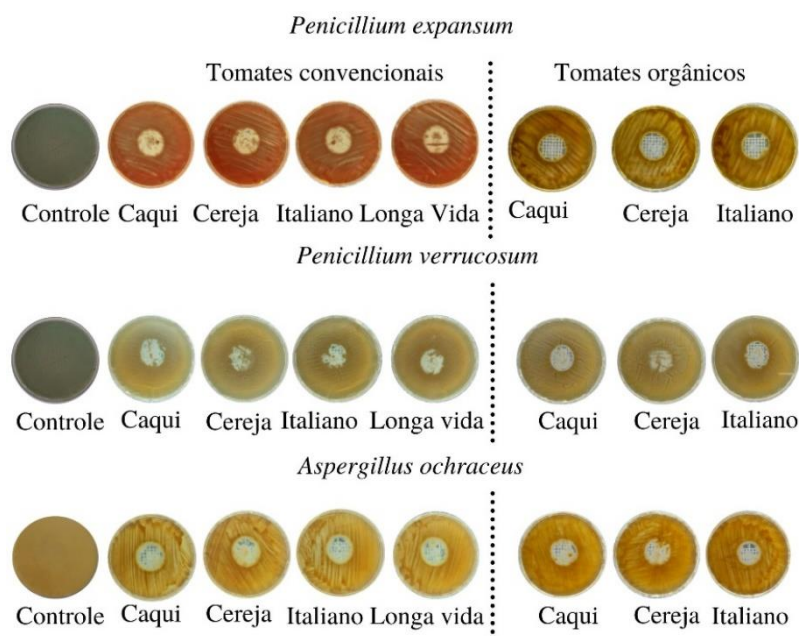
Italiano do cultivo orgânico foram significativamente menores quando aplicados nos cultivos das espécies de *Penicillium*. No tratamento controle não foi possível observar inibição.

Tabela 3 - Halo de inibição (cm) dos extratos fenólicos dos tomates de cultivo convencional e orgânico

Tomate	<i>P. expansum</i>	<i>P. verrucosum</i>	<i>A. ochraceus</i>
	Halo	Halo	Halo
Cultivo Convencional			
Caqui	2,7 ^a ± 0,08	2,7 ^a ± 0,05	2,4 ^a ± 0,04
Cereja	2,8 ^a ± 0,05	2,7 ^a ± 0,1	2,2 ^a ± 0,05
Italiano	2,7 ^a ± 0,05	2,6 ^a ± 0,06	2,4 ^a ± 0,1
Longa Vida	2,5 ^b ± 0,2	2,7 ^a ± 0,03	2,4 ^a ± 0,3
Cultivo Orgânico			
Caqui	2,4 ^b ± 0,1	2,2 ^b ± 0,2	2,3 ^a ± 0,06
Cereja	2,5 ^b ± 0,05	2,0 ^b ± 0,3	2,4 ^a ± 0,08
Italiano	2,5 ^b ± 0,3	2,3 ^b ± 0,05	2,2 ^a ± 0,2

Resultados expressos em média e desvio padrão. Letras subscritas na mesma coluna indicam diferença entre variedade e cultivo ($p < 0,05$). O tratamento controle não apresentou halo de inibição.

Figura 1 - Atividade antifúngica dos extratos fenólicos



Na Tabela 4 estão os valores de MIC e MFC dos extratos fenólicos aplicados nas espécies fúngicas. Os menores valores de MIC foram verificados nos extratos fenólicos das variedades de tomate provenientes do cultivo convencional. A presença do ácido cafeico

detectada neles pode estar associada a esta inibição. Em um estudo realizado por LIMA et al. (2016), o efeito antimicrobiano do ácido gálico, ácido cafeico e pirogalol contra *Candida tropicalis* ocorria quando era empregada a concentração de $1,0 \mu\text{g.mL}^{-1}$, que pode ser considerada elevada. No caso do nosso estudo, os níveis de MIC foram menores pois o efeito sinérgico de compostos fenólicos, já amplamente demonstrado, contribuiu para essa redução, estando de acordo com o trabalho de Scaglioni et al. (2019b).

Espécies de *Aspergillus* geralmente competem com espécies de *Penicillium* pelo domínio da flora fúngica. *Aspergillus* possui menos diversidade de espécies do que *Penicillium*, mas compensa pela capacidade de crescer em temperaturas mais altas ou atividade de água mais baixa, geralmente crescem mais rapidamente do que *Penicillium*, embora demorem mais para esporular, no entanto, seus esporos são mais resistentes à luz e produtos químicos (PITT; HOCKING, 2009). Esses atributos se mostraram evidentes quando não foi verificado efeito fungistático dos extratos quando aplicados para inibir as espécies de *Penicillium verrucosum* e *Aspergillus ochraceus*. Os extratos dos tomates de cultivo convencional mostraram efeito fungistático semelhante contra o *Penicillium expansum*.

Tabela 4 - Concentração mínima inibitória (MIC) e a concentração fungicida mínima (MFC) dos extratos fenólicos expressas em ($\mu\text{g mL}^{-1}$)

Tomate	<i>P. expansum</i>		<i>P. verrucosum</i>		<i>A. ochraceus</i>	
	MIC	MFC	MIC	MFC	MIC	MFC
Cultivo Convencional						
Caqui	$0,2^b \pm 0,3$	$0,3^a \pm 0,1$	$0,2^b \pm 0,3$	n.d	$0,2^b \pm 0,3$	n.d
Cereja	$0,2^b \pm 1,8$	$0,3^a \pm 1,1$	$0,2^b \pm 1,8$	n.d	$0,2^b \pm 1,8$	n.d
Italiano	$0,1^b \pm 1,6$	$0,3^a \pm 1,3$	$0,1^b \pm 1,6$	n.d	$0,1^b \pm 1,6$	n.d
Longa Vida	$0,2^b \pm 0,5$	$0,4^a \pm 0,4$	$0,2^b \pm 0,5$	n.d	$0,2^b \pm 0,5$	n.d
Cultivo Orgânico						
Caqui	$0,5^a \pm 0,3$	n.d	$0,5^a \pm 0,3$	n.d	$0,5^a \pm 0,3$	n.d
Cereja	$0,4^a \pm 1,3$	n.d	$0,4^a \pm 1,3$	n.d	$0,4^a \pm 1,3$	n.d
Italiano	$0,4^a \pm 0,8$	n.d	$0,4^a \pm 0,8$	n.d	$0,2^b \pm 0,8$	n.d

n.d = não detectado Resultados expressos em média e desvio padrão. Letras subscritas diferentes na mesma coluna indicam diferença entre cultivo e variedade ($p < 0,05$).

Os dados reforçam que a combinação de diversos compostos de defesa (ácidos fenólicos, aminoácidos e enzimas) é que determinam a susceptibilidade das variedades de tomates a contaminação por fungos dos gêneros *Aspergillus* e *Penicillium*. Aparentemente, o cultivo convencional promove a formação de um perfil fenólico com maior capacidade inibitória contra a contaminação fúngica. Considerando que este estudo é um dos poucos com

este foco, há uma sinalização para a importância do manejo da cultura, ocorrendo a manifestação de alguns mecanismos de defesa de tomates contra patógenos.

Estudos envolvendo bases moleculares de resistência têm permitido aos pesquisadores identificar genes cuja manipulação por superexpressão poderia levar a um melhoramento da resistência aos patógenos (BERGOUGNOUX et al., 2014). Por outro lado, a análise de plantas com alta suscetibilidade a patógenos levou à identificação de genes que estão envolvidos neste processo por silenciamento de genes ligados ao amadurecimento, e desta forma, foi obtida a variedade de tomate Longa Vida. No entanto, esta prática pode levar ao bloqueio de processos que conduzem o desenvolvimento do fruto e afetar na composição do mesmo (PADUCHURI et al., 2010), apesar destes fatos esta variedade apresentou um comportamento inibitório à contaminação fúngica (MIC e MFC) semelhante dos demais.

4 CONCLUSÃO

Os compostos fenólicos solúveis em etanol apresentaram teores semelhantes, diferindo apenas no tomate Italiano proveniente do cultivo convencional. Sob o efeito do manejo das culturas, os níveis dos aminoácidos prolina e cisteína mostraram diferença nas concentrações, sugerindo que podem ser usados como marcadores para a rastreabilidade do cultivo. Os extratos fenólicos dos tomates de cultivo convencional mostraram-se mais eficientes contra os fungos *Penicillium expansum*, *Penicillium verrucosum* e *Aspergillus ochraceus*. Essa inibição pode ser explicada pela presença do ácido cafeico nesses frutos, visto que, nos tomates orgânicos este ácido fenólico não foi detectado. A atividade fungistática só foi verificada nos extratos fenólicos dos tomates provenientes do cultivo convencional contra *Penicillium expansum*.

5 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ACOSTA-ESTRADA, B. A.; GUTIÉRREZ-URIBE, J. A.; SERNA-SALDÍVAR, S. O. Bound phenolics in foods, a review. **Food Chemistry**, v. 152, p. 46–55, 2014.

ALFOSEA-SIMÓN, M.; ZAVALA-GONZALEZ, E. A.; CAMARA-ZAPATA, J. M.; MARTÍNEZ-NICOLÁS, J. J.; SIMÓN, I.; SIMÓN-GRAO, S.; GARCÍA-SÁNCHEZ, F. Effect of foliar application of amino acids on the salinity tolerance of tomato plants cultivated under hydroponic system. **Scientia Horticulturae**, v. 272, p. 109509, 2020.

AWAN, Z. A.; SHOAIB, A.; KHAN, K. A. Crosstalk of Zn in Combination with Other Fertilizers Underpins Interactive Effects and Induces Resistance in Tomato Plant against Early Blight Disease. **the plant pathology journal**, v. 35, n. 4, p. 330–340, 2019.

BERARDIS, S. De; LAURA, E.; PAOLA, D.; MONTEVECCHI, G.; GARBINI, D.; MASINO, F.; ANTONELLI, A.; MELUCCI, D.; ITALIA, C.; LAVORO, V.; RENO, C. Determination of four *Alternaria alternata* mycotoxins by QuEChERS approach coupled with liquid chromatography-tandem mass spectrometry in tomato-based and fruit-based products. , v. 106, p. 677–685, 2018.

BERGOUGNOUX, V. The history of tomato: From domestication to biopharming. **Biotechnology Advances**, v. 32, p. 170–189, 2014.

CARRILLO, C.; WILCHES-PÉREZ, D.; HALLMANN, E.; KAZIMIERCZAK, R.; REMBIAŁKOWSKA, E. Organic versus conventional beetroot. Bioactive compounds and antioxidant properties. **Lwt**, v. 116, p. 108552, 2019.

CHOI, S. H.; KIM, D. S.; KOZUKUE, N.; KIM, H. J.; NISHITANI, Y.; MIZUNO, M.; LEVIN, C. E.; FRIEDMAN, M. Protein, free amino acid, phenolic, β -carotene, and lycopene content, and antioxidative and cancer cell inhibitory effects of 12 greenhouse-grown commercial cherry tomato varieties. **Journal of Food Composition and Analysis**, v. 34, n. 2, p. 115–127, 2014.

CHRIST-RIBEIRO, A.; GRAÇA, C. da S.; KUPSKI, L.; BADIALE-FURLONG, E.; SOUZA-SOARES, L. Cytotoxicity, antifungal and anti mycotoxins effects of phenolic compounds from fermented rice bran and *Spirulina* sp. **Process Biochemistry**, 2019.

COLMÁN, A. A.; ALVES, J. L.; DA SILVA, M.; BARRETO, R. W. *Phoma destructiva* causing blight of tomato plants: a new fungal threat for tomato plantations in Brazil? **Tropical Plant Pathology**, v. 43, n. 3, p. 257–262, 2018.

COYAGO-CRUZ, E.; CORELL, M.; MORIANA, A.; HERNANZ, D.; STINCO, C. M.; MELÉNDEZ-MARTÍNEZ, A. J. Effect of the fruit position on the cluster on fruit quality, carotenoids, phenolics and sugars in cherry tomatoes (*Solanum lycopersicum* L.). **Food Research International**, v. 100, p. 804–813, 2017.

CUNHA, S.; FARIA, M.; PEREIRA, V.; OLIVEIRA, T.; LIMA, A.; PINTO, E. Patulin assessment and fungi identification in organic and conventional fruits and derived products. **Food Control**, v. 44, p. 185–190, 2014.

DENARDI-SOUZA, T.; LUZ, C.; MAÑES, J.; BADIALE-FURLONG, E.; MECA, G. Antifungal effect of phenolic extract of fermented rice bran with *Rhizopus oryzae* and its potential use in loaf bread shelf life extension. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, v. 98, n. 13, p. 5011–5018, 2018.

DENARDI-SOUZA, T.; MASSAROLO, K. C.; TRALAMAZZA, S. M.; BADIALE-FURLONG, E. Monitoreo de la biomasa micótica modificada por *Rhizopus oryzae* en relación con el perfil de aminoácidos y ácidos grasos esenciales de harina de soya (soja), trigo y arroz. **CYTA - Journal of Food**, v. 16, n. 1, p. 156–164, 2018.

DONG, H.; XIAN, Y.; XIAO, K.; WU, Y.; ZHU, L.; HE, J. Development and comparison of single-step solid phase extraction and QuEChERS clean-up for the analysis of 7 mycotoxins in fruits and vegetables during storage by UHPLC-MS/MS. **Food Chemistry**, v. 274, p. 471–479, 2019.

EL-SAMAWATY, A. E. R. M. A.; EL-WAKIL, D. A.; ALAMERY, S.; MAHMOUD, M. M. H. Potency of plant extracts against *Penicillium* species isolated from different seeds and fruits in Saudi Arabia. **Saudi Journal of Biological Sciences**, v. 28, n. 6, p. 3294–3302, 2021.

HE, C.; ZHANG, Z.; LI, B.; XU, Y.; TIAN, S. Effect of natamycin on *Botrytis cinerea* and *Penicillium expansum*—Postharvest pathogens of grape berries and jujube fruit. **Postharvest Biology and Technology**, v. 151, p. 134–141, 2019.

HEIDTEMANN-BEMVENUTI, R.; TRALAMAZZA, S. M. FERREIRA, C. F. J.; CORRÊA, B.; BADIALE-FURLONG, E. Effect of natural compounds on *Fusarium graminearum* complex. **Journal science food agricultural**, v. 96, p. 3998–4008, 2016.

HERNÁNDEZ, A.; RUIZ-MOYANO, S.; GALVÁN, A. I.; MERCHÁN, A. V.; PÉREZ NEVADO, F.; ARANDA, E.; SERRADILLA, M. J.; CÓRDOBA, M. de G.; MARTÍN, A. Anti-fungal activity of phenolic sweet orange peel extract for controlling fungi responsible for post-harvest fruit decay. **Fungal Biology**, v. 125, n. 2, p. 143–152, 2021.

JIN, L.; CAI, Y.; SUN, C.; HUANG, Y.; YU, T. Exogenous L-glutamate treatment could induce resistance against *Penicillium expansum* in pear fruit by activating defense-related proteins and amino acids metabolism. **Postharvest Biology and Technology**, v. 150, p. 148–157, 2019.

KRISHNA, R.; ANSARI, W. A.; JAISWAL, D. K.; SINGH, A. K.; VERMA, J. P.; SINGH, M. Co-overexpression of AtDREB1A and BcZAT12 increases drought tolerance and fruit production in double transgenic tomato (*Solanum lycopersicum*) plants. **Environmental and Experimental Botany**, v. 184, p. 104396, 2021.

LIMA, L. W.; CHECCHIO, M. V.; DOS REIS, A. R.; DE CÁSSIA ALVES, R.; TEZZOTO, T.; GRATÃO, P. L. Selenium restricts cadmium uptake and improve micronutrients and proline concentration in tomato fruits. **Biocatalysis and Agricultural Biotechnology**, v. 18, p. 101057, 2019.

LIMA, V. N.; OLIVEIRA-TINTINO, C. D. M.; SANTOS, E. S.; MORAIS, L. P.; TINTINO, S. R.; FREITAS, T. S.; GERALDO, Y. S.; PEREIRA, R. L. S.; CRUZ, R. P.; MENEZES, I. R. A.; COUTINHO, H. D. M. Antimicrobial and enhancement of the antibiotic activity by phenolic compounds: Gallic acid, caffeic acid and pyrogallol. **Microbial Pathogenesis**, v. 99, p. 56–61, 2016.

MARTÍ, R.; LEIVA-BRONDO, M.; LAHOZ, I.; CAMPILLO, C.; CEBOLLA-CORNEJO, J.; ROSELLÓ, S. Polyphenol and L-ascorbic acid content in tomato as influenced by high lycopene genotypes and organic farming at different environments. **Food Chemistry**, v. 239, p. 148–156, 2018.

MARTINS, N.; BARROS, L.; HENRIQUES, M.; SILVA, S.; FERREIRA, I. C. F. R. Activity of phenolic compounds from plant origin against *Candida* species. **Industrial Crops and Products**, v. 74, p. 648–670, 2015.

MARZOUG, H. N. Ben; ROMDHANE, M.; LEBRIHI, A.; LEBRIHI, F.; COUDERC, F.; ABDERRABA, M.; ABDERRABA, M. L.; BOUAJILA, J. Eucalyptus oleosa essential oils: Chemical composition and antimicrobial and antioxidant activities of the oils from different plant parts (stems, leaves, flowers and fruits). **Molecules**, v. 16, n. 2, p. 1695–1709, 2011.

MENG, D.; GARBA, B.; REN, Y.; YAO, M.; XIA, X.; LI, M.; WANG, Y. Antifungal activity of chitosan against *Aspergillus ochraceus* and its possible mechanisms of action. **International Journal of Biological Macromolecules**, v. 158, p. 1063–1070, 2020.

ORTIZ DE ELGUEA-CULEBRAS, G.; SÁNCHEZ-VIOQUE, R.; SANTANA-MÉRIDAS, O.; HERRAIZ-PENÁLVER, D.; CARMONA, M.; BERRUGA, M. I. In vitro antifungal activity of residues from essential oil industry against *Penicillium verrucosum*, a common contaminant of ripening cheeses. **LWT - Food Science and Technology**, v. 73, p. 226–232, 2016.

PADUCHURI P, GOHOKAR S, THAMKE B, SUBHAS M. Transgenic tomatoes - a review. **International Journal Advances Biotechnology Research**, v 1, p. 69–72, 2010.

PERRE, E. Van De; JACXSENS, L.; LACHAT, C.; EL, F.; MEULENAER, B. De. Impact of maximum levels in European legislation on exposure of mycotoxins in dried products : Case of aflatoxin B1 and ochratoxin A in nuts and dried fruits. **Food and Chemical Toxicology**, v. 75, p. 112–117, 2015.

PITT, J. I.; HOCKING, A. D. **Fungi and food spoilage**. Austrália: Springer, 2009.

ROBLIN, G.; OCTAVE, S.; FAUCHER, M.; FLEURAT-LESSARD, P.; BERJEAUD, J. M. Cysteine: A multifaceted amino acid involved in signaling, plant resistance and antifungal development. **Plant Physiology and Biochemistry**, v. 129, n. May, p. 77–89, 2018.

RODRIGUES, M. H. P.; KUPSKI, L.; SOUZA, T. D. De; LUCAS, J.; ARIAS, D. O.; OCA, M. M. D.; FURLONG, E. B. Relations between nutrients and bioactive compounds of commercial tomato varieties by the Principal Component Analysis. **Food Science and Technology**, v. 2061, p. 1–8, 2021.

SALAS, M. P.; POK, P. S.; RESNIK, S. L.; PACIN, A. M.; MUNITZ, M. S. Assessment of Inhibitory Effects of Citrus Flavanones on Deoxynivalenol Production Using Response Surface Methodology. **Journal of Food Quality and Hazards Control**, v. 3, n. 2, p. 41–47, 2016.

SANTOS-BUELGA, C.; CARVALHO, A. M.; FERREIRA, I. C. F. R.; DUEÑAS, M.; BARROS, L. Characterization of phenolic compounds in flowers of wild medicinal plants from Northeastern Portugal. **Food and Chemical Toxicology**, v. 50, n. 5, p. 1576–1582, 2012.

SANTOS, E. O.; GONZALES, J. O.; ORES, J. C.; MARUBE, L. C.; CALDAS, S. S.; FURLONG, E. B.; PRIMEL, E. G. Sand as a solid support in ultrasound-assisted MSPD: A simple, green and low-cost method for multiresidue pesticide determination in fruits and vegetables. **Food Chemistry**, v. 297, p. 124926, 2019.

SCAGLIONI, P. T.; BLANDINO, M.; SCARPINO, V.; GIORDANO, D.; TESTA, G.;

BADIALE-FURLONG, E. Application of Fungicides and Microalgal Phenolic Extracts for the Direct Control of Fumonisin Contamination in Maize. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 66, n. 19, p. 4835–4841, 2018.

SCAGLIONI, P. T.; PAGNUSSATT, F. A.; LEMOS, A. C.; NICOLLI, C. P.; DEL PONTE, E. M.; BADIALE-FURLONG, E. Nannochloropsis sp. and Spirulina sp. as a Source of Antifungal Compounds to Mitigate Contamination by Fusarium graminearum Species Complex. **Current Microbiology**, v. 76, n. 8, p. 930–938, 2019.

SCAGLIONI, P. T.; SCARPINO, V.; MARINACCIO, F.; VANARA, F.; BADIALE FURLONG, E.; BLANDINO, M. Impact of microalgal phenolic extracts on the control of Fusarium graminearum and deoxynivalenol contamination in wheat. **World Mycotoxin Journal**, v. 12, n. 4, p. 367–378, 2019.

SCAGLIONI, P. T.; DE SOUZA, T. D.; SCHMIDT, C. G.; BADIALE-FURLONG, E. Availability of free and bound phenolic compounds in rice after hydrothermal treatment. **Journal of Cereal Science**, v. 60, n. 3, p. 526–532, 2014.

SILVA, B.; SOUZA, M. M.; BADIALE-FURLONG, E. Antioxidant and antifungal activity of phenolic compounds and their relation to aflatoxin B1 occurrence in soybeans (Glycine max L.). **Journal of the Science of Food and Agriculture**, v. 100, n. 3, p. 1256–1264, 2020.

TELLES, A. C.; KUPSKI, L.; FURLONG, E. B. Phenolic compound in beans as protection against mycotoxins. **Food Chemistry**, v. 214, p. 293–299, 2017.

VINHA, A. F.; BARREIRA, S.; COSTA, A. S. G.; ALVES, R. C.; A, M. B. P. P. O. Organic versus conventional tomatoes: Influence on physicochemical parameters, bioactive compounds and sensorial attributes. **Food and Chemical Toxicology**, v. 67, p. 139–144, 2014.

YANG, J.; JING, X.; WANG, T.; DI, J.; CHEN, L.; WANG, Y. Overactivation of glutamate consuming pathways in L-glutamate treated tomato fruits lead to resistance against Alternaria Alternata. **Postharvest Biology and Technology**, v. 169, p. 111311, 2020.

**ARTIGO IV – PATULINA E OCRATOXINA A EM TOMATES PROVENIENTES DE
CULTIVO ORGÂNICO, CONVENCIONAL E EM DIFERENTES ETAPAS DA
MATURAÇÃO**

PATULINA E OCRATOXINA A EM TOMATES PROVENIENTES DE CULTIVO ORGÂNICO, CONVENCIONAL E EM DIFERENTES ETAPAS DA MATURAÇÃO

RESUMO

O manejo dos cultivos e o estágio de maturação tem um papel importante na susceptibilidade de tecidos vegetais a contaminação fúngica e até na produção de micotoxinas, que permanecem no tecido mesmo após a alteração ou inativação da micota contaminante. Este estudo foi conduzido para validar um método de determinação de ocratoxina (OTA) e patulina (PAT) em tomates, visando avaliar a ocorrência em tomates de cultivo orgânico, convencional e em diferentes estádios de maturação dos frutos. As amostras foram de variedades de tomates disponíveis no comércio que foram caracterizadas quanto à acidez titulável, e conteúdo de pectina. OTA foi determinada por QuEChERS/ HPLC-FL. PAT foi determinada por MSPD/ HPLC-DAD. OTA não foi detectada em nenhum dos tomates estudados e os níveis de PAT nas amostras foram mais elevados em tomates de cultivo convencional. Esta contaminação pode estar relacionada com a acidez dos frutos, onde as amostras de tomate da variedade Cereja mostraram os maiores teores de acidez e os maiores níveis de PAT ($116,2 \mu\text{g.kg}^{-1}$). O tomate Caqui apresentou os maiores níveis de contaminação no estágio de maturação vermelho.

Palavras-chave: Acidez. Maturidade. MSPD. QuEChERS. Sistema de manejo.

1 INTRODUÇÃO

O tomate é um fruto com alto teor de carboidrato e umidade e possui uma casca fina que o torna bastante vulnerável a contaminação fúngica (COLMÁN et al., 2018). A principal forma de controlar a invasão do fruto por patógenos tem sido o uso de pesticidas, cuja aplicação indevida vem sendo demonstrada com frequência (ARIAS et al., 2014, 2021; DOS SANTOS et al., 2019). Além disso, a aplicação de pesticidas parece contribuir para a manifestação do potencial toxigênico em tecidos contaminados por fungos (DORS et al, 2010 e SCAGLIONI et al, 2019)

A exposição humana aos resíduos destes princípios ativos afeta o valor nutricional e funcional dos tomates reduzindo-os além do consequente prejuízos à saúde humana. Em vista disso, tem-se buscado alternativas que não sejam danosas ao meio ambiente, mas que possam garantir a qualidade do alimento, dentre estas destacam-se o cultivo orgânico (KATZ; BARROS, 2016). No entanto, neste modelo de manejo das plantas os resultados quanto a susceptibilidade ao ataque de patógenos são controversos e não está bem esclarecido se esta

condição impacta a infecção fúngica e produção de micotoxinas por espécies toxigênicas (CUNHA et al., 2014).

Além do manejo, a maturidade do fruto é outro ponto crítico para a infecção por patógenos, especialmente em tecidos com elevada atividade de água. Alguns estudos demonstram que dependendo do estágio de maturação, estes são capazes de superar as defesas das frutas e produzir infecções e doenças pós-colheita (VILANOVA et al., 2012). No entanto, até o momento, são escassos os relatos que abordam os níveis de micotoxinas em tomates em relação aos diferentes estádios de maturação.

Os principais fungos encontrados em tomates pertencem ao gênero *Alternaria*, cuja infecção diminui o rendimento da produção de tomates entre 50 a 80%. Além disso este gênero ainda possui espécies toxigênicas produtoras de ácido tenuazonico, alterotoxinas e outras (AWAN; SHOAIB; KHAN, 2019; BERARDIS et al., 2018). Outros fungos de gêneros como o *Fusarium*, *Penicillium* e *Aspergillus* também possuem espécies toxigênicas que foram detectados em tomates (PERRE et al., 2015). Dentre as micotoxinas encontradas em tomates estão aflatoxina B1, alternariol e patulina (BERARDIS et al., 2018; IQBAL et al., 2018; SARUBBI et al., 2016; TIAN et al., 2015).

A patulina (PAT) pode ser produzida por espécies de fungos como *Byssoschlamys*, *Penicillium* e *Aspergillus* (SADOK; SZMAGARA; MARIA, 2018) que é frequentemente encontrada como um contaminante natural de maçãs e seus produtos, motivando o estabelecimento de limites máximos aceitáveis determinados em regulamentação, pois possui também efeitos genotóxicos, teratogênicos e imunotóxicos conhecidos (CUNHA et al., 2014). Ocratoxina A (OTA) é uma micotoxina que pode ser produzida por espécies de fungos do gênero *Aspergillus* e *Penicillium*, a fonte direta de exposição pode ser pela ingestão de produtos alimentícios, como cereais e produtos à base de cereais, grãos de café, frutas secas, especiarias, vinho, cerveja e suco de uva (HAJOK; KOWALSKA; PIEKUT, 2019). Devido à alta toxicidade e seus efeitos neurotóxicos, nefrotóxicos e imunossupressores, orientações sobre a concentração máxima de OTA em alimentos foram estabelecidas (WANG et al., 2016). A União Europeia (EU) definiu os limites máximos toleráveis (LMT) de ingestão de patulina em suco de maçã e polpa de maçã de 50 $\mu\text{g.kg}^{-1}$ e para ocratoxina A em frutas secas e desidratadas de 10 $\mu\text{g.kg}^{-1}$.

A preocupação com a presença destas micotoxinas em tomates é decorrente do fato que fungos do gênero *Penicillium*, *Alternaria*, *Rhizopus*, *Cladosporium*, *Mucor* e *Botrytis* já foram encontrados em tomates (CUNHA et al., 2014). Alguns relataram a ocorrência de PAT em 37% das frutas amostradas, em níveis de 3,22 a 47,7 mg.kg^{-1} (IQBAL et al., 2018;

RYCHLIK; SCHIEBERLE, 2001; SARUBBI et al., 2016). Sarubbi et al. (2016) mostraram que alimentos para bebê contendo molho de tomate apresentavam contaminação com 5,23 ng. mL⁻¹ de PAT. Relatos sobre a presença de ocratoxina A em tomates ainda não foram encontrados.

Este contexto mostra a importância da determinação de PAT e OTA em tomates de diferentes cultivos e que estão disponíveis no comércio, a fim de avaliar o risco potencial para a saúde humana em decorrência do amplo consumo deste fruto na dieta. A primeira estratégia para conhecer o risco tem sido a proposição e validação de métodos de extração e detecção delas (CUNHA et al., 2014; DONG et al., 2019; IQBAL et al., 2018; SARUBBI et al., 2016). A extração é um dos principais pontos críticos e neste sentido a técnica de dispersão da matriz em fase sólida (MSPD), aplicada para diversos analitos tem chamado a atenção porque permite num mesmo método a combinação de várias etapas em apenas uma, nela toda amostra é homogeneamente dispersa em um suporte sólido (geralmente C₁₈) e a extração dos analitos e a etapa de limpeza são realizadas simultaneamente, com boa recuperação e precisão (WU et al., 2008). QuEChERS é um método eficaz para a limpeza de matrizes complexas e envolve um número mínimo de etapas sendo uma alternativa para economizar tempo e custo por amostra. Ele consiste em uma etapa de partição, seguida pela migração dos analitos para o solvente, por meio de salting-out, juntamente com uma etapa de desidratação (BERARDIS et al., 2018).

Este estudo foi conduzido para validar um método de determinação de PAT empregando extração por técnica MSPD e ocratoxina “A” por QuEChERS, visando avaliar a ocorrência delas em tomates de cultivo orgânico e convencional disponíveis comercialmente e frutos de cultivo experimental em diferentes estádios de maturação. Desta forma pode-se inferir sobre o perfil de susceptibilidade dos frutos à contaminação e contribuir para o estabelecimento de medidas preventivas para redução do risco de exposição a PAT e OTA pelo consumo deste fruto.

2 MATERIAL E MÉTODOS

2.1 REAGENTES

O acetato de etila e acetonitrila de grau HPLC foram adquiridos da J.T.Baker (Phillipsburg, NJ, EUA). A água foi purificada por um sistema de purificação de água Direct-Q UV3® (resistividade 18,2 MΩ cm, Millipore, EUA) (Millipore, Bedford, MA, EUA).

PAT e OTA (pureza ≥ 98%) foram adquiridas pela Sigma-Aldrich (St. Louis, MO, EUA). Soluções estoque contendo 50 µg mL⁻¹ de PAT foram preparadas em etanol e

armazenadas a -18°C , a solução trabalho foi preparada em etanol na concentração final de $2,5\text{ }\mu\text{g mL}^{-1}$. Solução estoque de OTA foi preparada em benzeno e ácido acético (99:1) na concentração de 10 ng mL^{-1} e sua solução trabalho continha 1 ng mL^{-1} de OTA.

2.2 AMOSTRAS E SUA CARACTERIZAÇÃO

Tomates das variedades Caqui, Cereja, Italiano e Longa Vida foram cultivadas em condições de campo no sul do Brasil. As amostras foram coletadas aleatoriamente a cada dois meses durante o ano de 2019. Um quilo de cada variedade de fruta foi escolhido por tamanho, cor e textura nos mercados onde havia rotação de produtos. Os tomates cultivados em sistema de cultivo orgânico exibiam o selo de certificação do Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (MAPA), obedecendo aos mesmos critérios descritos para sua coleta. As amostras de tomate da variedade Caqui em diferentes estádios de maturação foram coletadas de um cultivo experimental, aonde foram empregadas sementes comercializadas para produtores em estabelecimentos de insumos agropecuários. Elas foram cultivadas sob manejo orgânico em canteiro no mês de janeiro 2019. Amostras representativas de cada estágio foram coletadas conforme a quantidade de frutas em cada tomateiro. O estágio de maturação em cada coleta foi definido pela relação açúcar solúvel/ácido e parâmetros de cor determinados por colorimetria (RODRIGUES et al., 2021). Todos os lotes de amostras foram constituídos por tomates inteiros que foram fragmentados, liofilizados (liofilizador Liotop, Modelo L101) e armazenados a -4°C até o momento das determinações. Amostras de tomate isentas de micotoxinas detectáveis foram utilizadas para o desenvolvimento e validação dos métodos.

A acidez titulável foi determinada por volumetria e expressa como grama de ácido oxálico (AOAC, 2000). Frações solúveis e insolúveis de pectina foram determinadas pelo método gravimétrico descrito por McCready & McComb (1952) adaptado por Rodriguez et al (2021).

2.3 CONDIÇÕES CROMATOGRÁFICAS

Para identificar e quantificar OTA foi utilizado um cromatógrafo HPLC-FL acoplado com coluna Kromasil C18 (5 x 4,6 mm 150 A) operada a 35°C e taxa de fluxo de $0,6\text{ mL}\cdot\text{min}^{-1}$ de uma fase móvel constituída de água acidificada (1% ácido acético) e acetonitrila na proporção 50:50. O volume de injeção foi de $20\text{ }\mu\text{L}$. O sinal da micotoxina foi

detectado usando comprimento de onda de excitação e emissão de 333 e 460 nm, respectivamente. A identificação de OTA foi baseada no seu tempo de retenção (9,5 min) num total de tempo de execução de 13 min (KUPSKI, 2015).

Para identificar e quantificar PAT foi utilizado um cromatógrafo HPLC-DAD acoplado com coluna Gemini C18 (250 x 4,6 mm 110 Å) operada a 30 °C e taxa de fluxo de 0,8 mL.min⁻¹ de uma fase móvel constituída de água ultrapura e acetonitrila na proporção 95:5. O volume de injeção foi de 20 µL. O sinal da micotoxina foi detectado no comprimento de onda de 276 nm. A identificação de PAT foi baseada no seu tempo de retenção (15,3 min) num total de tempo de execução de 20 min e na comparação do espectro ultravioleta do composto na solução padrão com o espectro do pico na amostra. Testes de pureza de pico também foram realizados.

2.4 DETERMINAÇÃO DE PAT E OTA

OTA foi extraída pelo método de QuEChERS adaptado de Fernandes; Barros; Câmara (2013), 200 mg de tomate liofilizados foram pesados e adicionados 10 mL de acetonitrila acidificada (1% ácido acético) seguidos de agitação em vórtex por 1 min. Foram adicionados 2,6 g de uma mistura de sais que continha sulfato de magnésio, cloreto de sódio, citrato de sódio tribásico e citrato de sódio dibásico na proporção 8:2:2:1 e novamente agitados em vórtex por 1 min e centrifugados a 3220 x g por 5 min. A etapa de limpeza ocorreu com a adição de 2,5 mL de sobrenadante em 150 mg de sulfato de magnésio, 50 mg de sílica e agitados em vórtex por 1 min com centrifugação por 2 min. O sobrenadante foi seco a 60 °C, ressuspenso em 1 mL de fase móvel e filtrado em filtro de membrana de 0,45 para injeção em HPLC-FL.

A extração de PAT do tomate foi realizada de acordo com a técnica MSPD testando inicialmente diferentes suportes sólidos. Para este propósito, 200 mg de amostra e 200 mg de suporte sólido (C₁₈, celite, areia e casca de arroz) foram pesados, a mistura foi macerada com um pistilo por 5 min e transferida para um tubo de centrifugação. Em seguida, foram adicionados 5 mL de acetato de etila, o tubo foi agitado em vortex durante 3 min e centrifugado durante 15 min a 3220 x g. O sobrenadante foi seco a 60 °C, ressuspenso em 1 mL de fase móvel e filtrado em filtro de membrana de 0,45 para injeção em HPLC-DAD. O suporte que promoveu a maior recuperação foi escolhido para a determinação da PAT nas amostras de tomate.

Os métodos propostos foram validados avaliando o limite de detecção (LOD), o limite de quantificação (LOQ), a exatidão (recuperação), a precisão (repetibilidade e precisão

intermediária) e o efeito de matriz, de acordo com as diretrizes da EC (2006) e ANVISA (2003). LOD foi determinado pela relação sinal/ruído no tempo de retenção do padrão. LOQ foi definido como a menor concentração de analito cujo sinal foi detectado com segurança. A recuperação foi determinada em três níveis de concentração (0,1, 1 e 1,5 ng mL⁻¹ para OTA e 10, 50 e 100 ng mL⁻¹ para PAT) sendo a eficiência demonstrada por valores entre 70 e 120% com desvio padrão relativo (RSD) $\leq 20\%$. Para os cálculos das recuperações foram utilizadas as áreas de pico. Cada nível de fortificação foi extraído em triplicado e injetado três vezes (n = 9).

O estudo do efeito de matriz (EM) foi realizado de acordo com a Equação 1, relacionando a declividade da curva na matriz (Sm) e a curva no solvente (Ss). A curva na matriz foi preparada usando o tomate da variedade Italiano como referência. Valores acima de 100% indicam efeito de intensificação e valores abaixo de 100% indicam supressão média do sinal do analito. O EM é considerado baixo para uma faixa de supressão / intensificação de sinal de $\pm 20\%$, médio para faixas de $\pm 20\%$ e $\pm 50\%$ e alto para valores maiores que 50% ou menores que -50% (Economou et al., 2009).

$$EM (\%) = 100 \times \left(1 - \frac{S_m}{S_s}\right) \quad (1)$$

2.5 APLICABILIDADE DO MÉTODO

Após a validação, os métodos propostos foram aplicados para determinar PAT e OTA em amostras comerciais de tomates proveniente de cultivo orgânico e convencional das variedades Caqui, Cereja e Italiano e nos tomates em diferentes estádios de maturação da variedade Caqui. O tomate Longa Vida por ser cultivado apenas no modo convencional foi utilizado como referência para a análise dos demais.

2.6 ESTATÍSTICA

A análise estatística foi realizada usando o software Statistica 7.0 Portable (StatSoft Inc., Tulsa, USA, 2007). O teste estatístico empregado para comparação do método foi ANOVA seguido de Tukey com nível de confiança de 95% ($p < 0,05$). Para identificar diferenças entre os dois sistemas agrícolas foi aplicado o teste T de Student.

3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

3.1 VALIDAÇÃO DO MÉTODO E PERFORMANCE ANALÍTICA

Duas técnicas foram utilizadas para determinar as micotoxinas OTA e PAT. Isto se faz necessário porque elas possuem propriedades químicas distintas e requerem técnicas de extração e detecção apropriadas para cada uma delas. O emprego das técnicas de extração QuEChERS e MSPD considerou também o aspecto que ambos são eficientes e geram o mínimo de resíduos, conforme a tendência de abordagens analíticas amigáveis. No entanto, a eficiência das duas técnicas é dependente da etapa de limpeza especialmente da capacidade do adsorvente para eliminar interferentes (FERNANDES; BARROS; CÂMARA, 2013; PENG et al., 2016).

Sendo o tomate uma matriz de composição complexa, constituído por 9% de cinzas, 12% de proteínas e 37% de pectina insolúvel, com variabilidade dependente da cultivar e de outros fatores (RODRIGUES et al., 2021) foi necessário primeiramente realizar um teste para selecionar o suporte sólido (C₁₈, areia, celite e casca de arroz e combinados) para a técnica MSPD que promovesse a maior recuperação de PAT da matriz tomate (Tabela 1). Os suportes não convencionais testados foram escolhidos por terem sido eficientes em outros estudos onde a adsorção era importante, por serem materiais abundantes na região e com possibilidade de reduzir o custo da determinação (SANTOS et al., 2019). Para a extração de OTA não foi necessário estudo do adsorvente.

Tabela 1 - Recuperações obtidas para OTA e para PAT usando diferentes adsorventes

Adsorvente	Recuperações (%)
PAT	
C ₁₈	81,5 (1,0)
Areia	21 (0,8)
Celite	3,5 (1,0)
Casca de arroz	17,3 (1,2)
C ₁₈ : areia	50 (2,0)
OTA	
Sílica	80% (0,5)

Resultados expressos em média e desvio padrão relativo. Concentração de PAT: 20 ng mL⁻¹. Concentração de OTA: 1 ng mL⁻¹

Baixas recuperações foram encontradas para areia, celite, casca de arroz e C₁₈:areia. A ANVISA (2003), o INMETRO e a Comunidade Européia recomendam que as recuperações satisfatórias devem estar entre 70 e 120% com RSD abaixo de 20%. Considerando esta recomendação não foi possível empregar um suporte sólido alternativo para PAT. Usando C₁₈

a recuperação de PAT foi 81,5% com desvio padrão relativo (RSD) de 1,0% e este foi mantido para a determinação da micotoxina nas amostras de tomates, para OTA a recuperação foi de 80% com desvio padrão relativo de 0,5% (Tabela 1).

A fim de garantir um método adequado para o propósito, foi necessário realizar uma validação experimental. Para isso, os parâmetros de desempenho como exatidão, precisão, linearidade, aplicação, limite de detecção (LOD) e limite de quantificação (LOQ) precisam ser bem avaliados (Ruiz-Angel et al., 2014). A curva analítica de OTA e PAT, bem como seus parâmetros de confiabilidade estão apresentados na Tabela 2. Os dados mostram que os métodos são adequados para quantificação analítica de amostras de tomate, pois atendem as diretrizes de validação (ANVISA 2003, INMETRO 2003, EC 2006).

Tabela 2 - Parâmetros analíticos para determinação de PAT e OTA

Parâmetros	PAT	OTA
Curva no solvente	$y = 99,614x + 198,04$	$y = 27644x - 842,8$
Linearidade	10 – 200 ng mL ⁻¹	0,1 – 10 ng mL ⁻¹
Coefficiente de correlação	0,9998	0,9997
LOD _i	3 ng mL ⁻¹	0,03 ng mL ⁻¹
LOQ _i	10 ng mL ⁻¹	0,1 ng mL ⁻¹
Curva na matriz*	$y = 100,4x - 2059,3$	$y = 16441x - 2784,2$
Efeito de matriz	-0,7%	41%
Linearidade	20 – 200 ng mL ⁻¹	0,1 – 10 ng mL ⁻¹
Coefficiente de correlação	0,9911	0,9917
LOD _m	15 ng g ⁻¹	0,6 ng g ⁻¹
LOQ _m	50 ng g ⁻¹	2,2 ng g ⁻¹

LOD_i – Limite de detecção do instrumento; LOQ_i – Limite de quantificação do instrumento; LOD_m – Limite de detecção do método; LOQ_m – Limite de quantificação do método * em tomates.

As curvas analíticas foram construídas de modo a garantir que tivesse pelo menos cinco níveis de concentração. O efeito da matriz (EM) foi estudado para verificar se a matriz interfere no sinal do contaminante em questão. Para isso, foi preparada uma curva de solvente com as soluções padrão de OTA em acetonitrila e PAT em água: acetonitrila (95;5), assim como uma curva de matriz para os extratos após QuEChERS e MSPD. A comparação das inclinações mostrou que foi obtido o valor de 41% de EM para OTA e -0,7% para PAT. De acordo com o Documento da Comissão Europeia SANTE / 11945/2015, valores de EM de até $\pm 20\%$ são aceitáveis para traços de contaminantes de alimentos (SANTE, 2017), indicando que para OTA o efeito de matriz é alto e para PAT é baixo. Para corrigir esse efeito obtido por OTA, optou-se por utilizar a curva analítica matricial e, assim, compensar o EM e garantir maior confiabilidade na quantificação deste analito. Portanto, os métodos desenvolvidos e validados mostraram ser

confiáveis para avaliar a contaminação em tomates. A calibração com correspondência de matriz mostrou coeficientes de correlação acima de 0,99.

3.2 APLICABILIDADE DO MÉTODO

A produção de tomate é considerada de alto risco devido a suscetibilidade dele a estresses fisiológicos e ao ataque de pragas e doenças, acarretando a um alto investimento de recursos financeiros para controle das perdas na cadeia produtiva. A biossíntese de micotoxinas como PAT e OTA ainda tem sido bastante estudada, mas há relatos que informam que a adaptação do fungo ao produto, a diferentes ambientes e a composição dos alimentos podem promover a produção das micotoxinas, o que significa um grande desafio para a segurança de alimentos (GEISEN; SCHMIDT-HEYDT; TOUHAMI, 2018). Então, baseado em alguns autores que evidenciaram que a composição do alimento pode influenciar no conteúdo das micotoxinas e os relatos das ocorrências das espécies produtoras em tomates, este estudo buscou relacionar a acidez com a presença de OTA e PAT.

A OTA (Tabela 3) não foi detectada em nenhuma das amostras de tomate estudadas da mesma forma que Dong et al. (2019) também não encontraram. Essa micotoxina é encontrada em várias commodities alimentares, como cereais, feijão, especiarias, frutas secas, nozes e sementes oleaginosas e sua produção é maior em 0,98 aw e temperaturas entre 25 e 30 °C (WANG et al., 2016). Mesmo o tomate possuindo atividade de água nesta grandeza, a presença desta toxina tem sido pouco explorada. Kapetanakou et al. (2009) avaliaram o efeito da produção de OTA sob fatores ambientais combinados, pH, atividade de água e temperatura, não verificaram efeito específico do pH na biossíntese de OTA. Fato que corrobora com o nosso dado, pois mesmo que a acidez nas amostras de tomate fosse relativamente elevada não foi detectada a micotoxina.

Em contrapartida, PAT foi detectada em todas as amostras. Um ponto a se considerar é que a ausência de OTA e a presença de PAT nessas amostras podem estar interligadas ao mecanismo de defesa destes tomates, uma vez que PAT não é degradada pelas espécies reativas de oxigênio (ROS) e o aumento de ROS é uma proteção típica de defesa em frutos (GEISEN et al., 2018). O conteúdo de PAT independe do tipo de variedade e cultivo e estava abaixo dos limites já recomendados para outros alimentos, apenas as amostras de tomate Cereja cultivado em sistema convencional mostraram valores acima do limite de 50 $\mu\text{g.kg}^{-1}$ de PAT (legislação estabelecida para maçãs e seus produtos) (ANVISA, 2011; EC, 2006). Para relacionar os resultados com legislação, estes foram expressos em base úmida.

Tabela 3 - Conteúdo de acidez (mg g⁻¹ de ácido oxálico) e das micotoxinas OTA e PAT (µg kg⁻¹) nos tomates convencionais (c) e orgânicos (o) estudados

Tomate	Acidez	OTA	PAT
Caqui (c)	1,8 ^{ba} ± 0,1	n.d	42,7 ^{ba} ± 0,1
Caqui (o)	1,2 ^{cb} ± 0,1	n.d	12,0 ^{cb} ± 0,02
Cereja (c)	2,0 ^{aA} ± 0,2	n.d	116,2 ^{aA} ± 0,1
Cereja (o)	1,3 ^{cb} ± 0,1	n.d	28,0 ^{bcB} ± 0,03
Italiano (c)	1,3 ^{cb} ± 0,02	n.d	29,6 ^{bcA} ± 0,01
Italiano (o)	1,8 ^{ba} ± 0,2	n.d	48,3 ^{ba} ± 0,05
Longa Vida (c)	1,2 ^c ± 0,1	n.d	14,8 ^c ± 0,05

Resultados expressos em base úmida, média e desvio padrão. Letras sobescritas minúsculas indicam diferença entre as variedades (p<0,05). Letras sobescritas maiúsculas indicam diferença entre cultivo (t de student). n.d = não detectada.

Os níveis de PAT nas amostras de tomate variaram de 12,0 a 116,2 µg.kg⁻¹, os níveis mais elevados sendo encontrados em tomates de cultivo convencional, com exceção do tomate da variedade Italiano. Alguns autores mostraram que o sistema de manejo agrícola, influencia na ocorrência de PAT quando estudaram em maçãs (BERETTA et al., 2000; CUNHA et al., 2014). No entanto, não há relatos comparáveis para os níveis de PAT detectados em tomates e seus produtos.

Cunha et al. (2014) determinaram PAT em maçãs e tomates cultivados sob os sistemas orgânico e convencional, porém, para tomates não foi verificada diferença estatística que pudesse estar relacionada ao tipo de cultivo, mas em maçãs esse efeito foi observado. As maçãs do cultivo orgânico mostraram níveis de contaminação 17 vezes maior que maçãs convencionais.

Os dados deste estudo sugerem diferença em susceptibilidade a produção de PAT relacionada a variedade. Os tomates de cultivo convencional da variedade Cereja apresentaram maior acidez, seguido de Caqui, Italiano e Longa Vida, chamando atenção o fato que a primeira variedade se mostrou mais contaminada quando cultivada em sistema convencional. Em todos os tomates em que o conteúdo de PAT foi mais alto (cereja convencional e italiano orgânico) tem-se uma acidez maior também, este efeito parece estar relacionado ao sistema de cultivo.

O tomate Longa Vida possui um controle de amadurecimento obtido por seleção genética, dentre eles pode se destacar os alelos *rin* (inibidor de amadurecimento), *nor* (não amadurecimento) e o *alc* (aumento da firmeza), este conjunto proporciona ao fruto uma vida pós-colheita prolongada e uma firmeza da parede celular (BERGOUGNOUX et al., 2014), por possuir essas características supõe-se que esta variedade de tomate venha a ser a menos

suscetível ao ataque de patógenos e consequentemente acarretará na ausência ou redução de micotoxinas. Com os resultados deste estudo observamos que o tomate Longa Vida apresentou $14,8 \mu\text{g kg}^{-1}$ de PAT, sendo um dos menos contaminados e o tomate Caqui orgânico é estatisticamente semelhante a esta variedade apresentando $12 \mu\text{g kg}^{-1}$ de PAT.

3.3 EFEITO DA MATURIDADE NO CONTEÚDO DE PAT

A coloração dos tomates definidas como verde (estádio 1), pintado (estádio 2) e vermelho (estádio 3) foram estabelecidas pela análise de cor e pela Legislação Brasileira (BRASIL, 2008) que define verde maduro, quando se evidencia o início de amarelecimento na região apical do fruto; pintado, quando as cores amarelas, rosa ou vermelho encontram-se entre 10 e 30% da superfície do fruto e vermelho quando o fruto apresenta entre 60 e 90% da sua superfície vermelha.

O amadurecimento da fruta é um processo complexo que envolve uma variedade de mudanças bioquímicas e também está associado a suscetibilidade aumentada a patógenos. Torres et al. (2003) relataram que maçãs após 7 dias de colheita em campo comercial foram mais suscetíveis a contaminação por *P. expansum* do que maçãs colhidas com 7 dias de antecedência ao estágio maduro adotado comercialmente. Assim como, Vilanova et al. (2012) demonstraram que o estágio de maturação da fruta é um fator importante na resistência da maçã à fungos como *P. expansum* e *P. digitatum*.

Tabela 4 - Conteúdo de OTA e PAT de tomate Caqui em diferentes estádios de maturação

Estádio	Croma a	Croma b	Pectina total (%)	PAT ($\mu\text{g kg}^{-1}$)
1 (verde)	-11,3	35,6	$47,2 \pm 2,1$	<LOD
2 (pintado)	-5,2	62,3	$40,3 \pm 1,5$	$25,4 \pm 0,1$
3 (vermelho)	19,2	68,3	$33,5 \pm 2,0$	$51,3 \pm 0,05$

Croma a representa mudança de verde (-) para Vermelho (+) e croma b está relacionado ao amarelo.

Não existem relatos que demonstrem a formação de micotoxinas durante os estádios de maturação do tomate e nem se isso possui associação com a presença do patógeno, antes ou após a colheita. Tendo em vista que no levantamento de ocorrência deste estudo o tomate Caqui foi o que apresentou a menor contaminação por PAT, essa variedade foi escolhida para estudar o efeito da maturação nos níveis da micotoxina em diferentes estádios de maturação (Tabela 4).

A presença de PAT não foi detectada no estágio 1 de maturação e seu conteúdo foi 2 vezes maior na passagem do estágio 2 para o 3.

Vilanova et al. (2012) relacionaram a lignificação com a resistência fúngica em maçãs durante o processo de maturação. O estudo afirma que lignificação é um componente essencial de resistência em maçãs colhidas antes da maturidade ou na maturidade comercial. Estas quando colhidas em um estágio super maduro e quando estavam inoculados com *P. digitatum* não mostraram evidência de coloração (em teste histoquímico) para lignina até 7 dias após à inoculação e as amostras de controle apresentaram reação positiva apenas na colheita imatura. Essa pesquisa fornece informações suficientes para concluir que a parede celular do vegetal interfere na maneira com que o patógeno vai se manifestar e uma forma de conduzir, isto é, através da avaliação de algum constituinte da parede do pericarpo dos frutos, como a pectina.

No caso deste estudo foi considerado o teor de pectina como um fator de proteção ao patógeno, assim nos tomates em estágio 1(verde) este carboidrato estava numa concentração de 47,2% resultando em maior rigidez na parede celular e esta suposição parece estar justificada pela não detecção da micotoxina nos frutos neste estágio 1. Nos tomates no estágio 3 (Vermelho), cujo teor de pectina era 33,5% a parede celular estava menos rígida e facilitou a entrada de patógenos, como demonstrado pela detecção do maior conteúdo de PAT. Estes resultados sugerem que para a melhor compreensão do efeito do estágio de maturação e a susceptibilidade ao patógeno se faz necessário novos experimentos para comprovar este comportamento e estabelecer técnicas mais seguras que evitem a contaminação de frutos.

Cabe salientar que a ocorrência de PAT e a ausência de OTA sugere uma competição entre as espécies fúngicas produtoras em tomates como ocorre em maçãs, onde a PAT é a mais prevalente.

4 CONCLUSÃO

Os métodos de QuEChERS e MSPD são confiáveis para determinar ocratoxina (OTA) e patulina (PAT) em tomates. OTA não estava presente em nenhum dos tomates estudados. Os níveis de PAT foram mais elevados em tomates de cultivo convencional, demonstrando que isto pode estar relacionada com a acidez dos frutos. O tomate Cereja convencional é o mais ácido e apresentou maior conteúdo de PAT. No estágio de maturação vermelho o tomate constitui um meio mais adequado para a produção de PAT. No entanto, mais

estudos precisam ser realizados com o intuito de relacionar a maturidade com a presença de micotoxinas e contribuir para a elaboração de técnicas mais seguras para mitigar o risco micotoxicológico.

5 REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ANVISA, A. N. de V. S. Resolução RE nº 7, de 18 de fevereiro de 2011. **Regulamento técnico sobre limites máximos tolerados (LMT) para micotoxinas em alimentos**. Brasília, DF, 2011.

AOAC. **Official methods of analysis**. 17 th ed. 2000.

ARIAS, L. A.; BOJACÁ, C. R.; AHUMADA, D. A.; SCHREVEENS, E. Monitoring of pesticide residues in tomato marketed in bogota, colombia. **Food Control**, v. 35, n. 1, p. 213–217, 2014.

ARIAS, L. A.; GARZÓN, A.; AYARZA, A.; AUX, S.; BOJACÁ, C. R. Environmental fate of pesticides in open field and greenhouse tomato production regions from Colombia. **Environmental Advances**, v. 3, p. 100031, 2021.

AWAN, Z. A.; SHOAIB, A.; KHAN, K. A. Crosstalk of Zn in Combination with Other Fertilizers Underpins Interactive Effects and Induces Resistance in Tomato Plant against Early Blight Disease. **the plant pathology journal**, v. 35, n. 4, p. 330–340, 2019.
BERARDIS, S. De; LAURA, E.; PAOLA, D.; MONTEVECCHI, G.; GARBINI, D.; MASINO, F.; ANTONELLI, A.; MELUCCI, D.; ITALIA, C.; LAVORO, V.; RENO, C. Determination of four *Alternaria alternata* mycotoxins by QuEChERS approach coupled with liquid chromatography-tandem mass spectrometry in tomato-based and fruit-based products. **Food Research International**, v. 106, p. 677–685, 2018.

BERGOUIGNOUX, V. The history of tomato: From domestication to biopharming. **Biotechnology Advances**, v. 32, p. 170-189, 2014.

BRASIL. Ministério da Agricultura do Abastecimento e da Reforma Agrária. Instrução normativa Nº 33 de julho de 2008. **Propõe o Regulamento técnico que tem por objetivo definir as características de identidade e qualidade de tomate in natura após acondicionado**. Brasília, DF, 2008.

COLMÁN, A. A.; ALVES, J. L.; DA SILVA, M.; BARRETO, R. W. Phoma destructiva causing blight of tomato plants: a new fungal threat for tomato plantations in Brazil? **Tropical Plant Pathology**, v. 43, n. 3, p. 257–262, 2018.

CUNHA, S.; FARIA, M.; PEREIRA, V.; OLIVEIRA, T.; LIMA, A.; PINTO, E. Patulin assessment and fungi identification in organic and conventional fruits and derived products. **Food Control**, v. 44, p. 185–190, 2014.

DONG, H.; XIAN, Y.; XIAO, K.; WU, Y.; ZHU, L.; HE, J. Development and comparison of

single-step solid phase extraction and QuEChERS clean-up for the analysis of 7 mycotoxins in fruits and vegetables during storage by UHPLC-MS/MS. **Food Chemistry**, v. 274, p. 471–479, 2019.

FERNANDES, P. J.; BARROS, N.; CÂMARA, J. S. A survey of the occurrence of ochratoxin A in Madeira wines based on a modified QuEChERS extraction procedure combined with liquid chromatography-triple quadrupole tandem mass spectrometry. **Food Research International**, v. 54, n. 1, p. 293–301, 2013.

GEISEN, R.; SCHMIDT-HEYDT, M.; TOUHAMI, N. ScienceDirect New aspects of ochratoxin A and citrinin biosynthesis in *Penicillium*. **Current Opinion in Food Science**, v. 23, p. 23–31, 2018.

HAJOK, I.; KOWALSKA, A.; PIEKUT, A. A risk assessment of dietary exposure to ochratoxin A for the Polish population. **Food Chemistry**, v. 284, n. January, p. 264–269, 2019.

IQBAL, S. Z.; MALIK, S.; ASI, M. R.; SELAMAT, J.; MALIK, N. Natural occurrence of patulin in different fruits, juices and smoothies and evaluation of dietary intake in Punjab, Pakistan. **Food Control**, v. 84, p. 370–374, 2018.

KAPETANAKOU, A. E.; PANAGOU, E. Z.; GIALITAKI, M.; DROSINOS, E. H.; SKANDAMIS, P. N. Evaluating the combined effect of water activity, pH and temperature on ochratoxin A production by *Aspergillus ochraceus* and *Aspergillus carbonarius* on culture medium and Corinth raisins. **Food Control**, v. 20, n. 8, p. 725–732, 2009.

KATZ, L.; BARROS, R. H. Natural product discovery: past, present, and future. **Journal of industrial microbiology & Biotechnology**, v. 43, p. 155–176, 2016.

KUPSKI, L. Principal components analysis : An innovative approach to establish interferences in ochratoxin A detection. **Food Chemistry**, v. 177, p. 354–360, 2015.

MCCREADY, R. M.; MCCOMB, E. A. Extraction and Determination of Total Pectic Materials in Fruits. **Analytical Chemistry**, v. 24, n. 12, p. 1986–1988, 1952.

PENG, L. Q.; LI, Q.; CHANG, Y. xu; AN, M.; YANG, R.; TAN, Z.; HAO, J.; CAO, J.; XU, J. J.; HU, S. S. Determination of natural phenols in olive fruits by chitosan assisted matrix solid-phase dispersion microextraction and ultrahigh performance liquid chromatography with quadrupole time-of-flight tandem mass spectrometry. **Journal of Chromatography A**, v. 1456, p. 68–76, 2016.

PERRE, E. Van De; JACXSENS, L.; LACHAT, C.; EL, F.; MEULENAER, B. De. Impact of maximum levels in European legislation on exposure of mycotoxins in dried products : Case of aflatoxin B1 and ochratoxin A in nuts and dried fruits. **Food and Chemical Toxicology**, v. 75, p. 112–117, 2015.

RODRIGUES, M. H. P.; KUPSKI, L.; SOUZA, T. D. De; LUCAS, J.; ARIAS, D. O.; OCA, M. M. D.; FURLONG, E. B. Relations between nutrients and bioactive compounds of commercial tomato varieties by the Principal Component Analysis. **Food Bioscience**, v. 2061, p. 1–8, 2021.

RYCHLIK, M.; SCHIEBERLE, P. Model studies on the diffusion behavior of the mycotoxin patulin in apples, tomatoes, and wheat bread. **European Food Research and Technology**, v. 212, n. 3, p. 274–278, 2001.

SADOK, I.; SZMAGARA, A.; MARIA, M. The validated and sensitive HPLC-DAD method for determination of patulin in strawberries. **Food Chemistry**, v. 245, p. 364–370, 2018.

SANTOS, E. O.; GONZALES, J. O.; ORES, J. C.; MARUBE, L. C.; CALDAS, S. S.; FURLONG, E. B.; PRIMEL, E. G. Sand as a solid support in ultrasound-assisted MSPD: A simple, green and low-cost method for multiresidue pesticide determination in fruits and vegetables. **Food Chemistry**, v. 297, p. 124926, 2019.

SARUBBI, F.; FORMISANO, G.; AURIEMMA, G.; ARRICHIELLO, A.; PALOMBA, R. Patulin in homogenized fruit's and tomato products. **Food Control**, v. 59, p. 420–423, 2016.

TIAN, J.; ZENG, X.; LÜ, A.; ZHU, A.; PENG, X.; WANG, Y. Perillaldehyde , a potential preservative agent in foods : Assessment of antifungal activity against microbial spoilage of cherry tomatoes. **LWT - Food Science and Technology**, v. 60, 2015.

VILANOVA, L.; TEIXIDÓ, N.; TORRES, R.; USALL, J.; VIÑAS, I. The infection capacity of *P. expansum* and *P. digitatum* on apples and histochemical analysis of host response. **International Journal of Food Microbiology**, v. 157, n. 3, p. 360–367, 2012.

WANG, Y.; WANG, L.; LIU, F.; WANG, Q.; SELVARAJ, J. N.; XING, F.; ZHAO, Y.; LIU, Y. Ochratoxin A producing fungi, biosynthetic pathway and regulatory mechanisms. **Toxins**, v. 8, n. 3, p. 1–15, 2016.

WU, R. N.; DANG, Y. L.; NIU, L.; HU, H. Application of matrix solid-phase dispersion-HPLC method to determine patulin in apple and apple juice concentrate. **Journal of Food Composition and Analysis**, v. 21, n. 7, p. 582–586, 2008.

CAPÍTULO IV

CONCLUSÃO GERAL

A variedade de tomate Cereja é a melhor fonte de fibra solúvel, pois se destaca pelo conteúdo de pectina, bem como pela relação açúcar/ácido e teor de licopeno. Quanto aos componentes minerais essenciais, Cu e Ca apresentaram os níveis mais altos nas amostras. As variedades Cereja e Italiano são as melhores fontes de compostos funcionais entre aquelas de impacto no comércio e na dieta humana.

Com relação a atividade antioxidante, os compostos fenólicos explicam melhor o potencial antioxidante do que os carotenoides, sendo confirmado pela análise de componentes principais, que mostrou que o ácido protocatecoico e a quercetina estão mais fortemente relacionados com a atividade antioxidante das amostras.

Cada variedade de tomate apresentou mecanismos bioquímicos característicos e estes não mostram uma tendência definida com relação ao efeito do manejo das culturas na atividade das enzimas, sendo a exceção a atividade da enzima fenilalanina-amônia-liase (PAL). Quanto ao tipo de cultivo a variedade Italiano diferiu na atividade enzimática em comportamento e grandeza. A PCA mostrou que nesta variedade as atividades de oxido redutases estavam positivamente correlacionadas com o manejo orgânico e PAL pode ser usado como marcador na rastreabilidade de tomates, em especial para a variedade Italiano.

Os extratos fenólicos dos tomates de cultivo convencional apresentaram menores concentrações inibitórias contra os fungos *Penicillium expansum*, *Penicillium verrucosum* e *Aspergillus ochraceus*, relacionada ao ácido cafeico nesses tomates. A atividade fungistática só foi verificada nos extratos fenólicos dos tomates provenientes do cultivo convencional contra *Penicillium expansum*.

Entre os aminoácidos considerados como reguladores dos mecanismos de defesa apenas a prolina e cisteína mostraram diferença relacionadas ao manejo da cultura, sugerindo que podem ser marcadores para a rastreabilidade do cultivo. Estudos sobre seus efeitos nas respostas a contaminação fúngica precisam ser conduzidos.

Os métodos de QuEChERS e MSPD são confiáveis para se determinar OTA e PAT em tomates. OTA não foi detectada em nenhum dos tomates estudados e os níveis de PAT foram mais elevados em tomates de cultivo convencional demonstrando que isto pode estar relacionada com a acidez dos frutos. Isto ficou evidenciado pelo fato que as amostras de tomate Cereja provenientes do cultivo convencional apresentou o maior teor de acidez e conteúdo de PAT. O estágio de maturação vermelho mostrou-se mais propício a produção de PAT pela espécie toxigênica.

Portanto, as variedades Cereja e Italiano foram as que mais diferiram com relação à presença de compostos funcionais, atividade das enzimas e conteúdo de PAT. A enzima PAL e os aminoácidos, prolina e cisteína, podem ser usados como marcadores de cultivo orgânico, bem como o efeito fungistático o qual só foi relatado nos tomates convencionais.

CAPÍTULO V

RESÍDUOS GERADOS E DESTINO

Todos os resíduos de substâncias químicas gerados durante o desenvolvimento da pesquisa foram conduzidos de acordo com o manual de gerenciamento de resíduos da unidade acadêmica Escola de Química e Alimentos – EQA, visando a identificação, estocagem e tratamento adequado.

SUGESTÃO PARA TRABALHOS FUTUROS

As perspectivas para ampliar o conhecimento científico, sugere-se para novos trabalhos realizar a determinação da atividade antifúngica diretamente nas amostras de tomates para avaliar com mais aprofundamento o efeito sinérgico dos diferentes compostos de defesa (compostos fenólicos, aminoácidos e enzimas). Determinar a ocorrência de outras micotoxinas também pode complementar o entendimento dos mecanismos de resistência aos patógenos fúngicos, tais como as de *Alternaria* que também podem manifestar relação aos parâmetros variedade e tipo de cultivo.

CAPÍTULO VI

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ABD EL-FATTAH, A.; FATHY, M.; ALI, Z.; EL-GARAWANY, A.; MOHAMED, E. Enhanced therapeutic benefit of quercetin-loaded phytosome nanoparticles in ovariectomized rats. **Chem-Biol Interact**, v. 271, p. 30–38, 2017.
- ABOURAÏCHA, E.; EL ALAOUI-TALIBI, Z.; EL BOUTACHFAITI, R.; PETIT, E.; COURTOIS, B.; COURTOIS, J.; EL MODAFAR, C. Induction of natural defense and protection against *Penicillium expansum* and *Botrytis cinerea* in apple fruit in response to bioelicitors isolated from green algae. **Scientia Horticulturae**, v. 181, p. 121–128, 2015.
- 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.
- ACOSTA-ESTRADA, B. A.; GUTIÉRREZ-URIBE, J. A.; SERNA-SALDÍVAR, S. O. Bound phenolics in foods, a review. **Food Chemistry**, v. 152, p. 46–55, 2014.
- ALFOSEA-SIMÓN, M.; ZAVALA-GONZALEZ, E. A.; CAMARA-ZAPATA, J. M.; MARTÍNEZ-NICOLÁS, J. J.; SIMÓN, I.; SIMÓN-GRAO, S.; GARCÍA-SÁNCHEZ, F. Effect of foliar application of amino acids on the salinity tolerance of tomato plants cultivated under hydroponic system. **Scientia Horticulturae**, v. 27, p. 109509, 2020.
- ANDRADE, C. C. L.; RESENDE, R. S.; RODRIGUES, F. Á.; FERRAZ, H. G. M.; MOREIRA, W. R.; OLIVEIRA, J. R.; MARIANO, R. L. R. Silicon reduces bacterial speck development on tomato leaves. **Tropical Plant Pathology**, v. 38, n. 5, p. 436–442, 2013.
- ANDRIEU, M.-H.; BEAUVOIT, B. P.; GIBON, Y.; MAZAT, J.-P.; COLOMBIE, S.; CHENICLET, C.; BENARD, C.; MONIER, A.; BIAIS, B.; NAZARET, C.; DIEUAIDE-NOUBHANI, M. Model-Assisted Analysis of Sugar Metabolism throughout Tomato Fruit Development Reveals Enzyme and Carrier Properties in Relation to Vacuole Expansion. **The Plant Cell**, v. 26, n. 8, p. 3224–3242, 2014.
- ÁNGEL, M.; LUNA, A.; DE, S.; GONZÁLEZ, I.; MARTÍN, R.; GARCÍA, T. PCR-based assay for the detection of *Alternaria* species and correlation with HPLC determination of alternene, alternariol and alternariol monomethyl ether production in tomato products. **Food Control**, v. 25, n. 1, p. 45–52, 2012.
- ANVISA, A. N. de V. S. Resolução RE nº 7, de 18 de fevereiro de 2011. **Regulamento técnico sobre limites máximos tolerados (LMT) para micotoxinas em alimentos**. Brasília, DF, 2011.
- AOAC. **Official methods of analysis**. 17 th ed. 2000.
- ARIAS, L. A.; BOJACÁ, C. R.; AHUMADA, D. A.; SCHREVEENS, E. Monitoring of pesticide residues in tomato marketed in bogota, colombia. **Food Control**, v. 35, n. 1, p. 213–217, 2014.
- ARIAS, L. A.; GARZÓN, A.; AYARZA, A.; AUX, S.; BOJACÁ, C. R. Environmental fate

of pesticides in open field and greenhouse tomato production regions from Colombia. **Environmental Advances**, v. 3, p. 100031, 2021.

ASENSIO, E.; SANVICENTE, I.; MALLOR, C.; MENAL-PUEY, S. Spanish traditional tomato. Effects of genotype, location and agronomic conditions on the nutritional quality and evaluation of consumer preferences. **Food Chemistry**, v. 270, p. 452–458, 2019.

AWAN, Z. A.; SHOAIB, A.; KHAN, K. A. Crosstalk of Zn in Combination with Other Fertilizers Underpins Interactive Effects and Induces Resistance in Tomato Plant against Early Blight Disease. **the plant pathology journal**, v. 35, n. 4, p. 330–340, 2019.

BADIALE FURLONG, E.; BADIALE FURLONG, V.; KUPSKI, L.; SCAGLIONI, P. T.; DENARDI DE SOUZA, T.; CHRIST-RIBEIRO, A. Use of natural resources from Southern Brazil as a strategy to mitigate fungal contamination. **Critical Reviews in Food Science and Nutrition**, v. 0, n. 0, p. 1–8, 2020.

BAHORUN, T.; LUXIMON-RAMMA, A.; CROZIER, A.; ARUOMA, O. I. Total phenol, flavonoid, proanthocyanidin and vitamin C levels and antioxidant activities of Mauritian vegetables. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, v. 84, n. 12, p. 1553–1561, 2004.

BALBI, M. E.; MIGUEL, O. G.; MARIA, S.; HARACEMIV, C. Qualidade Nutricional E Antioxidante Do Tomate “ Tipo Italiano ”. **Alim. Nutr.**, v. 19, n. 1, p. 25–31, 2008.

BARROS, J.; DIXON, R. A. Plant Phenylalanine/Tyrosine Ammonia-lyases. **Trends in Plant Science**, v. 25, n. 1, p. 66–79, 2020.

BAUER, P.; ELBAUM, R.; WEISS, I. M. Calcium and silicon mineralization in land plants: Transport, structure and function. **Plant Science**, v. 180, n. 6, p. 746–756, 2011.

BAZANA, M. T.; CODEVILLA, C. F.; DE MENEZES, C. R. Nanoencapsulation of Bioactive Compounds: Challenges and Perspectives. **Current Opinion in Food Science**, 2019.

BECKLES, D. M. Factors affecting the postharvest soluble solids and sugar content of tomato (*Solanum lycopersicum* L.) fruit. **Postharvest Biology and Technology**, v. 63, n. 1, p. 129–140, 2012.

BECKLES, D. M.; HONG, N.; STAMOVA, L.; LUENGWILAI, K. Biochemical factors contributing to tomato fruit sugar content: A review. **Fruits**, v. 67, n. 1, p. 49–64, 2012.

BENACEUR, F.; CHAIBI, R.; BERRABAH, F.; NEIFAR, A.; LEBOUKH, M.; BENACEUR, K.; NOUIOUA, W.; REZZOUG, A.; BOUAZZARA, H.; GOUZI, H.; CABANA, H.; GARGOURI, A. Purification and characterization of latent polyphenol oxidase from truffles (*Terfezia arenaria*). **International Journal of Biological Macromolecules**, v. 145, p. 885–893, 2020.

BERARDIS, S. De; LAURA, E.; PAOLA, D.; MONTEVECCHI, G.; GARBINI, D.; MASINO, F.; ANTONELLI, A.; MELUCCI, D.; ITALIA, C.; LAVORO, V.; RENO, C. Determination of four *Alternaria alternata* mycotoxins by QuEChERS approach coupled with

liquid chromatography-tandem mass spectrometry in tomato-based and fruit-based products. **Food Reserach International**, v. 106, p. 677–685, 2018.

BERGOUGNOUX, V. The history of tomato: From domestication to biopharming. **Biotechnology Advances**, v. 32, p. 170-189, 2014.

BORGUINI, R. G.; DA SILVA TORRES, E. A. F. Tomatoes and tomato products as dietary sources of antioxidants. **Food Reviews International**, v. 25, n. 4, p. 313–325, 2009.

BRASIL. Ministério da Agricultura do Abastecimento e da Reforma Agrária. Lei N° 10.831 de 23 de dezembro de 2003. **Dispõe sobre a agricultura orgânica e dá outras providências**. Brasília, DF, 2003.

BRASIL. Ministério da Agricultura do Abastecimento e da Reforma Agrária. Instrução normativa N° 33 de julho de 2008. **Propõe o Regulamento técnico que tem por objetivo definir as características de identidade e qualidade de tomate in natura após acondicionado**. Brasília, DF, 2008.

CAPALDI, F. R.; GRATÃO, P. L.; REIS, A. R.; LIMA, L. W.; AZEVEDO, R. A. Sulfur Metabolism and Stress Defense Responses in Plants. **Tropical Plant Biology**, v. 8, n. 3–4, p. 60–73, 2015.

CARDOSO, P. C.; TOMAZINI, A. P. B.; STRINGHETA, P. C.; RIBEIRO, S. M. R.; PINHEIRO-SANT'ANA, H. M.; HALLMANN, E.; DE OLIVEIRA, A. B.; DE ALMEIDA LOPES, M. M.; MOURA, C. F. H.; DE SIQUEIRA OLIVEIRA, L.; DE SOUZA, K. O.; FILHO, E. G.; URBAN, L.; DE MIRANDA, M. R. A. Effects of organic vs. conventional farming systems on quality and antioxidant metabolism of passion fruit during maturation. **Scientia Horticulturae**, v. 222, p. 84–89, 2017.

CARIS-VEYRAT, C.; AMIOT, M. J.; TYSSANDIER, V.; GRASSELLY, D.; BURET, M.; MIKOLAJCZAK, M.; GUILLAND, J. C.; BOUTELOUP-DEMANGE, C.; BOREL, P. Influence of organic versus conventional agricultural practice on the antioxidant microconstituent content of tomatoes and derived purees; consequences on antioxidant plasma status in humans. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 52, n. 21, p. 6503–6509, 2004.

CARRILLO, C.; WILCHES-PÉREZ, D.; HALLMANN, E.; KAZIMIERCZAK, R.; REMBIAŁKOWSKA, E. Organic versus conventional beetroot. Bioactive compounds and antioxidant properties. **Lwt**, v. 116, p. 108552, 2019.

CASTRO, L.R.; CORTEZ, L.A.B.; JORGE, J.T. **Influência da embalagem no desenvolvimento de injúrias mecânicas em tomates**. Ciência e Tecnologia Alimentos, Campinas, v.21, n.1, p.26-33, 2001.

CHANG, C.; WANG, B.; SHI, L.; LI, Y.; DUO, L.; ZHANG, W. Alleviation of salt stress-induced inhibition of seed germination in cucumber (*Cucumis sativus* L.) by ethylene and glutamate. **Journal of Plant Physiology**, v. 167, n. 14, p. 1152–1156, 2010.

CHOI, S. H.; KIM, D. S.; KOZUKUE, N.; KIM, H. J.; NISHITANI, Y.; MIZUNO, M.; LEVIN, C. E.; FRIEDMAN, M. Protein, free amino acid, phenolic, β -carotene, and lycopene content, and antioxidative and cancer cell inhibitory effects of 12 greenhouse-grown

commercial cherry tomato varieties. **Journal of Food Composition and Analysis**, v. 34, n. 2, p. 115–127, 2014.

CHRIST-RIBEIRO, A.; BRETANHA, C. C.; LUZ, G. G.; BADIALE-FURLONG, E.; SOUZA, M. M. de. Antifungal compounds extracted from rice bran fermentation applied to bakery product conservation. **Acta Scientiarum. Technology**, v. 39, n. 3, p. 263, 2017.

CHRIST-RIBEIRO, A.; GRAÇA, C. da S.; KUPSKI, L.; BADIALE-FURLONG, E.; SOUZA-SOARES, L. Cytotoxicity, antifungal and anti mycotoxins effects of phenolic compounds from fermented rice bran and *Spirulina* sp. **Process Biochemistry**, 2019.

CIE. **Colorimetry. Publication CIE 15.2**. 2º ed. 1986.

CIPOLATTI, E. P.; BULSING, B. A.; SA, C. dos S.; BURKERT, C. A. V.; BADIALE-FURLONG, E.; BURKERT, J. F. de M. Carotenoids from *Phaffia rhodozyma*: Antioxidant activity and stability of extracts. **African Journal of Biotechnology**, v. 14, n. 23, p. 1982–1988, 2015.

COLMÁN, A. A.; ALVES, J. L.; DA SILVA, M.; BARRETO, R. W. *Phoma* destructiva causing blight of tomato plants: a new fungal threat for tomato plantations in Brazil? **Tropical Plant Pathology**, v. 43, n. 3, p. 257–262, 2018.

CORELL, M.; BELTRÁN-SINCHIGUANO, E.; STINCO, C. M.; MAPELLI-BRAHM, P.; COYAGO-CRUZ, E.; MORIANA, A.; HERNANZ, D.; MELÉNDEZ-MARTÍNEZ, A. J. Study of commercial quality parameters, sugars, phenolics, carotenoids and plastids in different tomato varieties. **Food Chemistry**, v. 277, p. 480–489, 2018.

COYAGO-CRUZ, E.; CORELL, M.; MORIANA, A.; HERNANZ, D.; STINCO, C. M.; MELÉNDEZ-MARTÍNEZ, A. J. Effect of the fruit position on the cluster on fruit quality, carotenoids, phenolics and sugars in cherry tomatoes (*Solanum lycopersicum* L.). **Food Research International**, v. 100, p. 804–813, 2017.

CRUICKSHANK, I. A. M.; PERRIN, D. R. Isolation of a phytoalexin from *Pisum sativum* L. **Nature**, v. 187, p. 799–800, 1960.

CUI, H.; SUN, Y.; CHEN, F.; ZHANG, Y.; GE, F. Elevated O₃ and TYLCV infection reduce the suitability of tomato as a host for the whitefly *bemisia tabaci*. **International Journal of Molecular Sciences**, v. 17, n. 12, 2016.

CUNHA, S.; FARIA, M.; PEREIRA, V.; OLIVEIRA, T.; LIMA, A.; PINTO, E. Patulin assessment and fungi identification in organic and conventional fruits and derived products. **Food Control**, v. 44, p. 185–190, 2014.

CHITARRA, M. I. F.; CHITARRA, A. B. **Pós-colheita de frutas e hortaliças: fisiologia e manuseio**. 2. ed. Lavras, MG: UFLA, 2005. 783 p.

DAVIS, A. R.; FISH, W. W.; PERKINS-VEAZIE, P. A. A rapid spectrophotometric method for analyzing lycopene content in tomato and tomato products. **Postharvest Biology and Technology**, v. 28, p. 425–430, 2003.

DENARDI-SOUZA, T.; LUZ, C.; MAÑES, J.; BADIALE-FURLONG, E.; MECA, G. Antifungal effect of phenolic extract of fermented rice bran with *Rhizopus oryzae* and its potential use in loaf bread shelf life extension. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, v. 98, n. 13, p. 5011–5018, 2018.

DENARDI-SOUZA, T.; MASSAROLO, K. C.; TRALAMAZZA, S. M.; BADIALE-FURLONG, E. Monitoreo de la biomasa micótica modificada por *Rhizopus oryzae* en relación con el perfil de aminoácidos y ácidos grasos esenciales de harina de soya (soja), trigo y arroz. **CYTA - Journal of Food**, v. 16, n. 1, p. 156–164, 2018.

DESHMUKH, S. R.; WADEGAONKAR, V. P.; BHAGAT, R. P.; WADEGAONKAR, P. A. Tissue specific expression of Anthraquinones, flavonoids and phenolics in leaf, fruit and root suspension cultures of Indian Mulberry (*Morinda citrifolia* L.). **Plant OMICS**, v. 4, n. 1, p. 6–13, 2011.

DIXON, R. A. Natural products and plant disease resistance. **Nature**, v. 411, n. 6839, p. 843–847, 2001.

DONG, H.; XIAN, Y.; XIAO, K.; WU, Y.; ZHU, L.; HE, J. Development and comparison of single-step solid phase extraction and QuEChERS clean-up for the analysis of 7 mycotoxins in fruits and vegetables during storage by UHPLC-MS/MS. **Food Chemistry**, v. 274, p. 471–479, 2019.

DUSI, A. N.; LOPES, C. A.; OLLVELRA, C. A. S.; MOREIRA, H. M.; MIRANDA, J. E. C. de; CHARCHAR, J. M.; SILVA, J. L. de O.; MAGALHÃES, J. R.; BRANCO, M. C.; REIS, N. V. B.; PEREIRA, W.; YOSHLHLKO HORINO. **A cultura do tomateiro (para mesa)**. 1993.

EFSA, (European Food Safety); ARCELLA, D.; ESKOLA, M.; GÓMEZ RUIZ, J. A. Scientific report on the dietary exposure assessment to *Alternaria* toxins in the European population. **EFSA Journal**, v. 14, n. 4654, p. 32, 2016.

EL-SAMAWATY, A. E. R. M. A.; EL-WAKIL, D. A.; ALAMERY, S.; MAHMOUD, M. M. H. Potency of plant extracts against *Penicillium* species isolated from different seeds and fruits in Saudi Arabia. **Saudi Journal of Biological Sciences**, v. 28, n. 6, p. 3294–3302, 2021.

ESMAEILY, M.; BANDANI, A. R. Interaction between larval α -amylase of the tomato leaf miner, *Tuta absoluta* Meyrick (Lepidoptera: Gelechiidae) and proteinaceous extracts from plant seeds. **Journal of Plant Protection Research**, v. 55, n. 3, p. 278–286, 2015.

FATTORE, M.; MONTESANO, D.; PAGANO, E.; TETA, R.; BORRELLI, F.; MANGONI, A.; SECCIA, S.; ALBRIZIO, S. Carotenoid and flavonoid profile and antioxidant activity in “Pomodoro Vesuviano” tomatoes. **Journal of Food Composition and Analysis**, v. 53, n. 1238, p. 61–68, 2016.

FELTRIN, A. C. P.; FONTES, M. R. V.; GRACIA, H. D. K.; BADIALE-FURLONG, E.; GARDA-BUFFON, J. Peroxidase from soybean meal: Obtention, purification and application in reduction of deoxynivalenol levels. **Quimica Nova**, v. 40, n. 8, p. 908–915, 2017.

FERNANDES, M. de F. L.; DE MORAES, S. M.; DE SOUSA, P. H. M.; MAGALHÃES, C. E. de C.; ALMEIDA, M. M. B.; SILVA, M. G. de V. Characterization of leaves used in

infusion preparation grown in northeastern Brazil by chemometric methods based on their multi-elemental composition. **Food Science and Technology**, v. 39, n. June, p. 309–315, 2019.

FERNANDES, P. J.; BARROS, N.; CÂMARA, J. S. A survey of the occurrence of ochratoxin A in Madeira wines based on a modified QuEChERS extraction procedure combined with liquid chromatography-triple quadrupole tandem mass spectrometry. **Food Research International**, v. 54, n. 1, p. 293–301, 2013.

FIGÀS, M. R.; PROHENS, J.; RAIGÓN, M. D.; FITA, A.; GARCÍA-MARTÍNEZ, M. D.; CASANOVA, C.; BORRÀS, D.; PLAZAS, M.; ANDÚJAR, I.; SOLER, S. Characterization of composition traits related to organoleptic and functional quality for the differentiation, selection and enhancement of local varieties of tomato from different cultivar groups. **Food Chemistry**, v. 187, p. 517–524, 2015.

FLOTT, B. E.; MOERSCHBACHER, B. M.; REISENER, H.-J. Peroxidase isoenzyme patterns of resistant and susceptible wheat leaves following stem rust infection. **New Phytologist**, v. 111, n. 3, p. 413–421, 1989.

FRIDMAN, E.; CARRARI, F.; LIU, Y. S.; FERNIE, A. R.; ZAMIR, D. Zooming in on a quantitative trait for tomato yield using interspecific introgressions. **Science**, v. 305, n. 5691, p. 1786–1789, 2004.

GALLO, A.; FERRARA, M.; PERRONE, G. Recent advances on the molecular aspects of ochratoxin A biosynthesis. **Current Opinion in Food Science**, v. 17, p. 49–56, 2017.

GANESH KUMAR, V.; VISWANATHAN, R.; MALATHI, P.; NANDAKUMAR, M.; RAMESH SUNDAR, A. Differential Induction of 3-deoxyanthocyanidin Phytoalexins in Relation to Colletotrichum falcatum Resistance in Sugarcane. **Sugar Tech**, v. 17, n. 3, p. 314–321, 2015.

GARCÍA-HERNÁNDEZ, J.; HERNÁNDEZ-PÉREZ, M.; PEINADO, I.; ANDRÉS, A.; HEREDIA, A. Tomato-antioxidants enhance viability of *L. reuteri* under gastrointestinal conditions while the probiotic negatively affects bioaccessibility of lycopene and phenols. **Journal of Functional Foods**, v. 43, p. 1–7, 2018.

GE, Y. hong; LI, C. ying; LÜ, J. yi; ZHU, D. shi. Effects of thiamine on Trichothecium and Alternaria rots of muskmelon fruit and the possible mechanisms involved. **Journal of Integrative Agriculture**, v. 16, n. 11, p. 2623–2631, 2017.

GEISEN, R.; SCHMIDT-HEYDT, M.; TOUHAMI, N. ScienceDirect New aspects of ochratoxin A and citrinin biosynthesis in *Penicillium*. **Current Opinion in Food Science**, v. 23, p. 23–31, 2018.

GEISEN, R.; TOUHAMI, N.; SCHMIDT-HEYDT, M.; HIMMELSBACHA. New aspects of ochratoxin A and citrinin biosynthesis in *Penicillium*. **Current Opinion in Food Science**, v. 23, p. 23–31, 2018.

GEORGE, B.; KAUR, C.; KHURDIYA, D. S.; KAPOOR, H. C. Antioxidants in tomato (*Lycopersium esculentum*) as a function of genotype. **Food Chemistry**, v. 84, n. 1, p. 45–51,

2004.

GIOVANNETTI, M.; AVIO, L.; BARALE, R.; CECCARELLI, N.; CRISTOFANI, R.; IEZZI, A.; MIGNOLLI, F.; PICCIARELLI, P.; PINTO, B.; REALI, D.; SBRANA, C.; SCARPATO, R. Nutraceutical value and safety of tomato fruits produced by mycorrhizal plants. **British Journal of Nutrition**, v. 107, n. 2, p. 242–251, 2012.

GIOVANNUCCI, D. R.; BRUCE, J. I. E.; STRAUB, S. V.; ARREOLA, J.; SNEYD, J.; SHUTTLEWORTH, T. J.; YULE, D. I. Cytosolic Ca²⁺ and Ca²⁺-activated Cl⁻ current dynamics: Insights from two functionally distinct mouse exocrine cells. **Journal of Physiology**, v. 540, n. 2, p. 469–484, 2002.

GÓMEZ, P.; ÁNGELES FERRER, M.; PABLO FERNÁNDEZ-TRUJILLO, J.; CALDERÓN, A.; ARTÉS, F.; EGEA-CORTINES, M.; WEISS, J. Structural changes, chemical composition and antioxidant activity of cherry tomato fruits (cv. Micro-Tom) stored under optimal and chilling conditions. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, v. 89, n. 9, p. 1543–1551, 2009.

GRANATO, D.; NUNES, D. S.; BARBA, F. J. An integrated strategy between food chemistry, biology, nutrition, pharmacology, and statistics in the development of functional foods: A proposal. **Trends in Food Science and Technology**, v. 62, p. 13–22, 2017.

GUILLON, F.; MOÏSE, A.; QUEMENER, B.; BOUCHET, B.; DEVAUX, M. F.; ALVARADO, C.; LAHAYE, M. Remodeling of pectin and hemicelluloses in tomato pericarp during fruit growth. **Plant Science**, v. 257, p. 48–62, 2017.

HAJOK, I.; KOWALSKA, A.; PIEKUT, A. A risk assessment of dietary exposure to ochratoxin A for the Polish population. **Food Chemistry**, v. 284, p. 264–269, 2019.

HALLMANN, E. The influence of organic and conventional cultivation systems on the nutritional value and content of bioactive compounds in selected tomato types. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, v. 92, n. 14, p. 2840–2848, 2012.

HALLMANN, E.; REMBIAL KOWSKA, E. Characterisation of antioxidant compounds in sweet bell pepper (*Capsicum annuum* L.) under organic and conventional growing systems. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, v. 92, n. 12, p. 2409–2415, 2012.

HE, C.; ZHANG, Z.; LI, B.; XU, Y.; TIAN, S. Effect of natamycin on *Botrytis cinerea* and *Penicillium expansum*—Postharvest pathogens of grape berries and jujube fruit. **Postharvest Biology and Technology**, v. 151, n. February, p. 134–141, 2019.

HEIDTEMANN-BEMVENUTI, R.; TRALAMAZZA, S. M. FERREIRA, C. F. J.; CORRÊA, B.; BADIALE-FURLONG, E. Effect of natural compounds on *Fusarium graminearum* complex. **Journal science food agricultural**, v. 96, p. 3998–4008, 2016.

HEIMLER, D.; ROMANI, A.; IERI, F. Plant polyphenol content, soil fertilization and agricultural management: a review. **European Food Research and Technology**, v. 243, n. 7, p. 1107–1115, 2017.

HELL, K.; GNONLON, B. G. J.; KODJOGBE, G.; LAMBONI, Y.; ABDOURHAMANE, I.

K. Myco flora and occurrence of a flatoxin in dried vegetables in Benin , Mali and Togo , West Africa. **International Journal of Food Microbiology**, v. 135, p. 99–104, 2009.

HERNÁNDEZ, A.; RUIZ-MOYANO, S.; GALVÁN, A. I.; MERCHÁN, A. V.; PÉREZ NEVADO, F.; ARANDA, E.; SERRADILLA, M. J.; CÓRDOBA, M. de G.; MARTÍN, A. Anti-fungal activity of phenolic sweet orange peel extract for controlling fungi responsible for post-harvest fruit decay. **Fungal Biology**, v. 125, n. 2, p. 143–152, 2021.

HERNÁNDEZ SUÁREZ, M.; RODRÍGUEZ RODRÍGUEZ, E. M.; DÍAZ ROMERO, C. Mineral and trace element concentrations in cultivars of tomatoes. **Food Chemistry**, v. 104, n. 2, p. 489–499, 2007.

HILDEBRANDT, T. M.; NUNES NESI, A.; ARAÚJO, W. L.; BRAUN, H. P. Amino Acid Catabolism in Plants. **Molecular Plant**, v. 8, n. 11, p. 1563–1579, 2015.

HUANG, D.; BOXIN, O. U.; PRIOR, R. L. The chemistry behind antioxidant capacity assays. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 53, n. 6, p. 1841–1856, 2005.
IBGE. Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística. Disponível em:
<<https://agenciadenoticias.ibge.gov.br>>.

IQBAL, N.; NAZAR, R. Osmolytes and plants acclimation to changing environment: Emerging omics technologies. **Osmolytes and Plants Acclimation to Changing Environment: Emerging Omics Technologies**, p. 1–170, 2015.

IQBAL, S. Z.; MALIK, S.; ASI, M. R.; SELAMAT, J.; MALIK, N. Natural occurrence of patulin in different fruits, juices and smoothies and evaluation of dietary intake in Punjab, Pakistan. **Food Control**, v. 84, p. 370–374, 2018.

ITO, S. ichi; IHARA, T.; TAMURA, H.; TANAKA, S.; IKEDA, T.; KAJIHARA, H.; DISSANAYAKE, C.; ABDEL-MOTAAL, F. F.; EL-SAYED, M. A. α -Tomatine, the major saponin in tomato, induces programmed cell death mediated by reactive oxygen species in the fungal pathogen *Fusarium oxysporum*. **FEBS Letters**, v. 581, n. 17, p. 3217–3222, 2007.

JIN, L.; CAI, Y.; SUN, C.; HUANG, Y.; YU, T. Exogenous L-glutamate treatment could induce resistance against *Penicillium expansum* in pear fruit by activating defense-related proteins and amino acids metabolism. **Postharvest Biology and Technology**, v. 150, n. August 2018, p. 148–157, 2019.

JIN, P.; WANG, S. Y.; WANG, C. Y.; ZHENG, Y. Effect of cultural system and storage temperature on antioxidant capacity and phenolic compounds in strawberries. **Food Chemistry**, v. 124, n. 1, p. 262–270, 2011.

JOHNSTON, D. B.; MCALOON, A. J. Protease increases fermentation rate and ethanol yield in dry-grind ethanol production. **Bioresource Technology**, v. 154, p. 18–25, 2014.

KADOTANI, N.; AKAGI, A.; TAKATSUJI, H.; MIWA, T.; IGARASHI, D. Exogenous proteinogenic amino acids induce systemic resistance in rice. **BMC Plant Biology**, v. 16, n. 1, p. 1–10, 2016.

KAPETANAKOU, A. E.; PANAGOU, E. Z.; GIALITAKI, M.; DROSINOS, E. H.;

SKANDAMIS, P. N. Evaluating the combined effect of water activity, pH and temperature on ochratoxin A production by *Aspergillus ochraceus* and *Aspergillus carbonarius* on culture medium and Corinth raisins. **Food Control**, v. 20, n. 8, p. 725–732, 2009.

KATZ, L.; BARROS, R. H. Natural product discovery: past, present, and future. **Journal of industrial microbiology & Biotechnology**, v. 43, p. 155–176, 2016.

KAUR, C.; KAPOOR, H. . Antioxidants in fruits and vegetables – the millennium’s health. **Food Science and Technology**, v. 36, p. 703–725, 2001.

KLEE, H. J.; GIOVANNONI, J. J. Genetics and Control of Tomato Fruit Ripening and Quality Attributes. **Annual Review of Genetics**, v. 45, n. 1, p. 41–59, 2011.

KREMER, J. n Σ 3 Fatty acids and cardiovascular disease 1 – 4. **American Journal of Clinical Nutrition**, v. 71, n. 6, p. 1691S – 1695, 2008.

KRISHNA, R.; ANSARI, W. A.; JAISWAL, D. K.; SINGH, A. K.; VERMA, J. P.; SINGH, M. Co-overexpression of AtDREB1A and BcZAT12 increases drought tolerance and fruit production in double transgenic tomato (*Solanum lycopersicum*) plants. **Environmental and Experimental Botany**, v. 184, p. 104396, 2021.

KUPSKI, L. Principal components analysis : An innovative approach to establish interferences in ochratoxin A detection. **Food Chemistry**, v. 177, p. 354–360, 2015.

LANA, M. M. et al. **Identificação das causas de perdas pós colheita de tomate no varejo em Brasília-DF**. Brasília: Embrapa Hortaliças, 2006. 25 p. (Boletim de Pesquisa e Desenvolvimento, 16)

LEONARDI, C.; AMBROSINO, P.; ESPOSITO, F.; FOGLIANO, V. Antioxidative activity and carotenoid and tomatine contents in different typologies of fresh consumption tomatoes. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 48, n. 10, p. 4723–4727, 2000.

LI, N.; LI, Z.; HUANG, W.; HABIB, S.; YANG, L.; HU, G. Functional Characterization of SISAHH2 in Tomato Fruit Ripening. **Frontiers in Plant Science**, v. 8, n. July, p. 1–12, 2017.

LI, X.; LI, H.; LI, X.; ZHANG, Q. Determination of trace patulin in apple-based food matrices. **Food Chemistry**, v. 233, p. 290–301, 2017.

LIMA, L. W.; CHECCHIO, M. V.; DOS REIS, A. R.; DE CÁSSIA ALVES, R.; TEZZOTO, T.; GRATÃO, P. L. Selenium restricts cadmium uptake and improve micronutrients and proline concentration in tomato fruits. **Biocatalysis and Agricultural Biotechnology**, v. 18, 2018, p. 101057, 2019.

LIMA, V. N.; OLIVEIRA-TINTINO, C. D. M.; SANTOS, E. S.; MORAIS, L. P.; TINTINO, S. R.; FREITAS, T. S.; GERALDO, Y. S.; PEREIRA, R. L. S.; CRUZ, R. P.; MENEZES, I. R. A.; COUTINHO, H. D. M. Antimicrobial and enhancement of the antibiotic activity by phenolic compounds: Gallic acid, caffeic acid and pyrogallol. **Microbial Pathogenesis**, v. 99, p. 56–61, 2016.

LIU, H.; KANG, Y.; ZHAO, X.; LIU, Y.; ZHANG, X.; ZHANG, S. Effects of elicitation on bioactive compounds and biological activities of sprouts. **Journal of Functional Foods**, v.

53, p. 136–145, 2019.

LOPES, C. A.; ÁVILA, A. C. **Doenças do tomateiro**. 2005.

LOWRY, O. H.; ROSEBROUGH, N. J.; FARR, A. L.; RANDALL, R. J. Protein measurement with the Folin phenol reagent. **The journal of biological chemistry**, v. 193, n. 1, p. 265–275, 1951.

MAGGIO, A.; DE PASCALE, S.; PARADISO, R.; BARBIERI, G. Quality and nutritional value of vegetables from organic and conventional farming. **Scientia Horticulturae**, v. 164, p. 532–539, 2013.

MARTÍ, R.; LEIVA-BRONDO, M.; LAHOZ, I.; CAMPILLO, C.; CEBOLLA-CORNEJO, J.; ROSELLÓ, S. Polyphenol and L-ascorbic acid content in tomato as influenced by high lycopene genotypes and organic farming at different environments. **Food Chemistry**, v. 239, p. 148–156, 2018.

MARTÍNEZ-BALLESTA, M.; GIL-IZQUIERDO, A.; GARCÍA-VIGUERA, C.; R, D.-P. Nanoparticles and controlled delivery for bioactive compounds: outlining challenges for new “smart-foods” for health. **Foods**, v. 72, p. 1–29, 2018.

MARTINS, N.; BARROS, L.; HENRIQUES, M.; SILVA, S.; FERREIRA, I. C. F. R. Activity of phenolic compounds from plant origin against *Candida* species. **Industrial Crops and Products**, v. 74, p. 648–670, 2015.

MARZOUG, H. N. Ben; ROMDHANE, M.; LEBRIHI, A.; LEBRIHI, F.; COUDERC, F.; ABDERRABA, M.; ABDERRABA, M. L.; BOUAJILA, J. Eucalyptus oleosa essential oils: Chemical composition and antimicrobial and antioxidant activities of the oils from different plant parts (stems, leaves, flowers and fruits). **Molecules**, v. 16, n. 2, p. 1695–1709, 2011.

MCCREADY, R. M.; MCCOMB, E. A. Extraction and Determination of Total Pectic Materials in Fruits. **Analytical Chemistry**, v. 24, n. 12, p. 1986–1988, 1952.

MENG, D.; GARBA, B.; REN, Y.; YAO, M.; XIA, X.; LI, M.; WANG, Y. Antifungal activity of chitosan against *Aspergillus ochraceus* and its possible mechanisms of action. **International Journal of Biological Macromolecules**, v. 158, p. 1063–1070, 2020.

MICHEREFF, S.; BARROS, R. **Proteção De Plantas Na Agricultura Sustentável**. 2001. MISRA, N. N.; KEENER, K. M.; BOURKE, P.; MOSNIER, J. P.; CULLEN, P. J. In-package atmospheric pressure cold plasma treatment of cherry tomatoes. **Journal of Bioscience and Bioengineering**, v. 118, n. 2, p. 177–182, 2014.

MODAFAR, C.; ELGADDA, M.; EL BOUTACHFAITI, R.; ABOURAICHA, E.; ZEHHAR, N.; PETIT, E.; EL ALAOUI-TALIBI, Z.; COURTOIS, B.; COURTOIS, J. Induction of natural defence accompanied by salicylic acid-dependant systemic acquired resistance in tomato seedlings in response to bioelicitors isolated from green algae. **Scientia Horticulturae**, v. 138, p. 55–63, 2012.

MOHAMMADI, M.; KAZEMI, H. Changes in peroxidase and polyphenol oxidase activities in susceptible and resistant wheat heads inoculated with *Fusarium graminearum* and induced

resistance. **Plant Science**, v. 162, n. 4, p. 491–498, 2002.

MONQUERO, P. A. Plantas Transgênicas Resistentes Aos Herbicidas : Situação e perspectivas. **Bragantia**, v. 64, n. 4, p. 517–531, 2005.

MÜLLER, K. O.; BÖRGER, H. **Experimentelle Untersuchungen über die Phytophthora - Resistenz der Kartoffel**. 23^o ed. 1940.

NASCIMENTO, M. M.; DE JESUS, R. M.; SANTOS, H. M.; DA SILVA JUNIOR, A. L. S.; CAMPOS, N. M. C. O.; DA SILVA, E. G. P.; LÔBO, I. P. Quality pattern evaluation of frozen soursop pulps: An assessment based on chemical composition and chemometric analysis. **Food Science and Technology**, v. 40, n. 2, p. 508–516, 2020.

NAVARRO-GONZÁLEZ, I.; GARCÍA-ALONSO, J.; PERIAGO, M. J. Bioactive compounds of tomato: Cancer chemopreventive effects and influence on the transcriptome in hepatocytes. **Journal of Functional Foods**, v. 42, p. 271–280, 2018.

ODRIOZOLA-SERRANO, I.; HERNÁNDEZ-JOVER, T.; MARTÍN-BELLOSO, O. Comparative evaluation of UV-HPLC methods and reducing agents to determine vitamin C in fruits. **Food Chemistry**, v. 105, n. 3, p. 1151–1158, 2007.

OLIVEIRA, A. B.; DE ALMEIDA LOPES, M. M.; MOURA, C. F. H.; DE SIQUEIRA OLIVEIRA, L.; DE SOUZA, K. O.; FILHO, E. G.; URBAN, L.; DE MIRANDA, M. R. A. Effects of organic vs. conventional farming systems on quality and antioxidant metabolism of passion fruit during maturation. **Scientia Horticulturae**, v. 222, p. 84–89, 2017.

ORSINI, F.; MAGGIO, A.; ROUPHAEL, Y.; DE PASCALE, S. “Physiological quality” of organically grown vegetables. **Scientia Horticulturae**, v. 208, p. 131–139, 2016.

ORTIZ DE ELGUEA-CULEBRAS, G.; SÁNCHEZ-VIOQUE, R.; SANTANA-MÉRIDAS, O.; HERRAIZ-PENÁLVER, D.; CARMONA, M.; BERRUGA, M. I. In vitro antifungal activity of residues from essential oil industry against *Penicillium verrucosum*, a common contaminant of ripening cheeses. **LWT - Food Science and Technology**, v. 73, p. 226–232, 2016.

PACHECO, A. L. V.; PAGLIARINI, M. F.; DE FREITAS, G. B.; SANTOS, R. H. S.; SERRÃO, J. E.; ZANUNCIO, J. C. Mineral composition of pulp and production of the yellow passion fruit with organic and conventional fertilizers. **Food Chemistry**, v. 217, p. 425–430, 2017.

PADUCHURI P, GOHOKAR S, THAMKE B, SUBHAS M. Transgenic tomatoes - a review. **International Journal Advances Biotechnology Research**, v 1, p. 69–72, 2010.

PAGNUSSATT, F. A.; DEL PONTE, E. M.; GARDA-BUFFON, J.; BADIALE-FURLONG, E. Inhibition of *Fusarium graminearum* growth and mycotoxin production by phenolic extract from *Spirulina* sp. **Pesticide Biochemistry and Physiology**, v. 108, p. 21–26, 2014.

PAN, L.; ZHAO, X.; CHEN, M.; FU, Y.; XIANG, M.; CHEN, J. Effect of exogenous methyl jasmonate treatment on disease resistance of postharvest kiwifruit. **Food Chemistry**, v. 305, p. 125483, 2020.

PEANPARKDEE, M.; IWAMOTO, S. Bioactive compounds from by-products of rice cultivation and rice processing: Extraction and application in the food and pharmaceutical industries. **Trends in food science & technology**, v. 86, p. 109–117, 2019.

PENG, L. Q.; LI, Q.; CHANG, Y. xu; AN, M.; YANG, R.; TAN, Z.; HAO, J.; CAO, J.; XU, J. J.; HU, S. S. Determination of natural phenols in olive fruits by chitosan assisted matrix solid-phase dispersion microextraction and ultrahigh performance liquid chromatography with quadrupole time-of-flight tandem mass spectrometry. **Journal of Chromatography A**, v. 1456, p. 68–76, 2016.

PERRE, E. Van De; JACXSENS, L.; LACHAT, C.; EL, F.; MEULENAER, B. De. Impact of maximum levels in European legislation on exposure of mycotoxins in dried products : Case of aflatoxin B1 and ochratoxin A in nuts and dried fruits. **Food and Chemical Toxicology**, v. 75, p. 112–117, 2015.

PIEPER, J. R.; BARRETT, D. M. Effects of organic and conventional production systems on quality and nutritional parameters of processing tomatoes. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, v. 89, n. 2, p. 177–194, 2009.

PITT, J. I.; HOCKING, A. D. **Fungi and food spoilage**. Austrália: Springer, 2009.

POVEDA, J. Use of plant-defense hormones against pathogen-diseases of postharvest fresh produce. **Physiological and Molecular Plant Pathology**, v. 111, p. 101521, 2020.

PRESSEY, R. Enzymes Involved in Fruit Softening. Agricultural research service, p. 172–191, 1977.

RADY, M. M.; BELAL, H. E. E.; GADALLAH, F. M.; SEMIDA, W. M. Selenium application in two methods promotes drought tolerance in *Solanum lycopersicum* plant by inducing the antioxidant defense system. **Scientia Horticulturae**, v. 266, p. 109290, 2020.

RAFFO, A.; LEONARDI, C.; FOGLIANO, V.; AMBROSINO, P.; SALUCCI, M.; GENNARO, L.; BUGIANESI, R.; GIUFFRIDA, 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, n. 22, p. 6550–6556, 2002.

RAJPUT, L.; IMRAN, A.; MUBEEN, F.; HAFEEZ, F. Y. Salt-tolerant PGPR strain *Planococcus rifietensis* promotes the growth and yield of wheat (*Triticum aestivum* L.) cultivated in saline soil. **Pakistan Journal of Botany**, v. 45, n. 6, p. 1955–1962, 2013.

RIAH, A.; HDIDER, C.; SANAA, M.; TARCHOUN, N.; KHEDER, M. Ben; GUEZAL, I. Effect of conventional and organic production systems on the yield and quality of field tomato cultivars grown in Tunisia. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, v. 89, n. 13, p. 2275–2282, 2009.

RISSANEN, P.; FRANSSILA-KALLUNKI, A.; RISSANEN, A. Cardiac parasympathetic activity is increased by weight loss in healthy obese women. **Obesity research**, v. 9, n. 10, p. 637–643, 2001.

ROBLIN, G.; OCTAVE, S.; FAUCHER, M.; FLEURAT-LESSARD, P.; BERJEAUD, J. M. Cysteine: A multifaceted amino acid involved in signaling, plant resistance and antifungal

development. **Plant Physiology and Biochemistry**, v. 129, p. 77–89, 2018.

RODRIGUES, M. H. P.; KUPSKI, L.; SOUZA, T. D. De; LUCAS, J.; ARIAS, D. O.; OCA, M. M. D.; FURLONG, E. B. Relations between nutrients and bioactive compounds of commercial tomato varieties by the Principal Component Analysis. **Food Bioscience**, v. 2061, p. 1–8, 2021.

RODRIGUEZ-AMAYA, D. B.; KIMURA, M. **HarvestPlus Handbook for Carotenoid Analysis**. 2004.

RODRÍGUEZ-FERNÁNDEZ, D. E.; RODRÍGUEZ-LEÓN, J. A.; DE CARVALHO, J. C.; STURM, W.; SOCCOL, C. R. The behavior of kinetic parameters in production of pectinase and xylanase by solid-state fermentation. **Bioresource Technology**, v. 102, n. 22, p. 10657–10662, 2011.

RODRIGUEZ-LAFUENTE, A. NERIN, C. BATTLE, R. Active paraffin-based paper packaging for extending the shelf life of Cherry tomato. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 58, p. 6780–6786, 2010.

ROSATI, A.; CAFIERO, C.; PAOLETTI, A.; ALFEI, B.; CAPORALI, S.; CASCIANI, L.; VALENTINI, M. Effect of agronomical practices on carpology, fruit and oil composition, and oil sensory properties, in olive (*Olea europaea* L.). **Food Chemistry**, v. 159, p. 236–243, 2014.

ROSSI, F.; GODANI, F.; BERTUZZI, T.; TREVISAN, M.; FERRARI, F.; GATTI, S. Health-promoting substances and heavy metal content in tomatoes grown with different farming techniques. **European Journal of Nutrition**, v. 47, n. 5, p. 266–272, 2008.

ROSSI, M.; CARUSO, F.; ANTONIOLETTI, R.; VIGLIANTI, A.; TRAVERSI, G.; LEONE, S.; BASSO, E.; COZZI, R. Scavenging of hydroxyl radical by resveratrol and related natural stilbenes after hydrogen peroxide attack on DNA. **Chemico-Biological Interactions**, v. 206, n. 2, p. 175–185, 2013.

RYCHLIK, M.; SCHIEBERLE, P. Model studies on the diffusion behavior of the mycotoxin patulin in apples, tomatoes, and wheat bread. **European Food Research and Technology**, v. 212, n. 3, p. 274–278, 2001.

SADOK, I.; SZMAGARA, A.; MARIA, M. The validated and sensitive HPLC-DAD method for determination of patulin in strawberries. **Food Chemistry**, v. 245, n. September 2017, p. 364–370, 2018.

SALAS, M. P.; POK, P. S.; RESNIK, S. L.; PACIN, A. M.; MUNITZ, M. S. Assessment of Inhibitory Effects of Citrus Flavanones on Deoxynivalenol Production Using Response Surface Methodology. **Journal of Food Quality and Hazards Control**, v. 3, n. 2, p. 41–47, 2016.

SANDROCK, R. W.; VANETTEN, H. D. Fungal sensitivity to and enzymatic degradation of the phytoanticipin α -tomatine. **Phytopathology**, v. 88, n. 2, p. 137–143, 1998.

SANTOS-BUELGA, C.; CARVALHO, A. M.; FERREIRA, I. C. F. R.; DUEÑAS, M.;

BARROS, L. Characterization of phenolic compounds in flowers of wild medicinal plants from Northeastern Portugal. **Food and Chemical Toxicology**, v. 50, n. 5, p. 1576–1582, 2012.

SANTOS, E. O.; GONZALES, J. O.; ORES, J. C.; MARUBE, L. C.; CALDAS, S. S.; FURLONG, E. B.; PRIMEL, E. G. Sand as a solid support in ultrasound-assisted MSPD: A simple, green and low-cost method for multiresidue pesticide determination in fruits and vegetables. **Food Chemistry**, v. 297, p. 124926, 2019.

SARUBBI, F.; FORMISANO, G.; AURIEMMA, G.; ARRICHIELLO, A.; PALOMBA, R. Patulin in homogenized fruit's and tomato products. **Food Control**, v. 59, p. 420–423, 2016.

SCAGLIONI, P. T.; BLANDINO, M.; SCARPINO, V.; GIORDANO, D.; TESTA, G.; BADIALE-FURLONG, E. Application of Fungicides and Microalgal Phenolic Extracts for the Direct Control of Fumonisin Contamination in Maize. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 66, n. 19, p. 4835–4841, 2018.

SCAGLIONI, P. T.; PAGNUSSATT, F. A.; LEMOS, A. C.; NICOLLI, C. P.; DEL PONTE, E. M.; BADIALE-FURLONG, E. Nannochloropsis sp. and Spirulina sp. as a Source of Antifungal Compounds to Mitigate Contamination by Fusarium graminearum Species Complex. **Current Microbiology**, v. 76, n. 8, p. 930–938, 2019.

SCAGLIONI, P. T.; SCARPINO, V.; MARINACCIO, F.; VANARA, F.; BADIALE FURLONG, E.; BLANDINO, M. Impact of microalgal phenolic extracts on the control of Fusarium graminearum and deoxynivalenol contamination in wheat. **World Mycotoxin Journal**, v. 12, n. 4, p. 367–378, 2019.

SCAGLIONI, P. T.; DE SOUZA, T. D.; SCHMIDT, C. G.; BADIALE-FURLONG, E. Availability of free and bound phenolic compounds in rice after hydrothermal treatment. **Journal of Cereal Science**, v. 60, n. 3, p. 526–532, 2014.

SCHMIDT, C. G.; GONÇALVES, L. M.; PRIETTO, L.; HACKBART, H. S.; FURLONG, E. B. Antioxidant activity and enzyme inhibition of phenolic acids from fermented rice bran with fungus Rizhopus oryzae. **Food Chemistry**, v. 146, p. 371–377, 2014.

SEUFERT, V.; RAMANKUTTY, N.; FOLEY, J. A. Comparing the yields of organic and conventional agriculture. **Nature**, v. 485, n. 7397, p. 229–232, 2012.

SHADLE, G. L.; WESLEY, S. V.; KORTH, K. L.; CHEN, F.; LAMB, C.; DIXON, R. A. Phenylpropanoid compounds and disease resistance in transgenic tobacco with altered expression of L-phenylalanine ammonia-lyase. **Phytochemistry**, v. 64, n. 1, p. 153–161, 2003.

SHAHBAZI, Y.; SHAVISI, N. Occurrence of aflatoxins and ochratoxin A in Gaz, a traditional Persian confection, and its ingredients. **Food Control**, v. 98, p. 107–112, 2019.

SHARMA, K. P. Tannin degradation by phytopathogen's tannase: A Plant's defense perspective. **Biocatalysis and Agricultural Biotechnology**, v. 21, p. 101342, 2019.

SILVA, B.; SOUZA, M. M.; BADIALE-FURLONG, E. Antioxidant and antifungal activity of phenolic compounds and their relation to aflatoxin B1 occurrence in soybeans (Glycine max L.). **Journal of the Science of Food and Agriculture**, v. 100, n. 3, p. 1256–1264, 2020.

SLIMESTAD, R.; FOSSEN, T.; VERHEUL, M. J. The flavonoids of tomatoes. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 56, n. 7, p. 2436–2441, 2008.

SLIMESTADA, R.; VERHEULB, M. Review of flavonoids and other phenolics from fruits of different tomato (*lycopersicon esculentum* mill.) cultivars. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, v. 89, n. 8, p. 1255–1270, 2009.

SOARES, A. de S.; AUGUSTO, P. E. D.; LEITE JÚNIOR, B. R. de C.; NOGUEIRA, C. A.; VIEIRA, É. N. R.; DE BARROS, F. A. R.; STRINGHETA, P. C.; RAMOS, A. M. Ultrasound assisted enzymatic hydrolysis of sucrose catalyzed by invertase: Investigation on substrate, enzyme and kinetics parameters. **Lwt**, v. 107, n. February, p. 164–170, 2019.

SOUZA, M. M.; PRIETTO, L.; RIBEIRO, A. C.; SOUZA, T. D.; BADIALE-FURLONG, E. Assessment of the antifungal activity of *Spirulina platensis* phenolic extract against *Aspergillus flavus*. **Ciência e Agrotecnologia**, v. 35, p. 1050–1058, 2011.

STINCO, C. M.; MORIANA, A.; MELÉNDEZ-MARTÍNEZ, A. J.; HERNANZ, D.; COYAGO-CRUZ, E.; CORELL, M. Effect of regulated deficit irrigation on quality parameters, carotenoids and phenolics of diverse tomato varieties (*Solanum lycopersicum* L.). **Food Research International**, v. 96, p. 72–83, 2017.

SUN, C.; JIN, L.; CAI, Y.; HUANG, Y.; ZHENG, X.; YU, T. L-Glutamate treatment enhances disease resistance of tomato fruit by inducing the expression of glutamate receptors and the accumulation of amino acids. **Food Chemistry**, v. 293, p. 263–270, 2019.
TAGER, J. M.; BIALE, J. B. Carboxylase and aldolase activity in the ripening banana. **Plant Physiology**, v. 10, p. 79–85, 1957.

TAYLOR, M.; SCHAUER, N.; KLEE, H. J.; HANSON, A. D.; FERNIE, A. R.; TIEMAN, D. Tomato aromatic amino acid decarboxylases participate in synthesis of the flavor volatiles 2-phenylethanol and 2-phenylacetaldehyde. **Proceedings of the National Academy of Sciences**, v. 103, n. 21, p. 8287–8292, 2006.

TELLES, A. C.; KUPSKI, L.; FURLONG, E. B. Phenolic compound in beans as protection against mycotoxins. **Food Chemistry**, v. 214, p. 293–299, 2017.

TIAN, J.; ZENG, X.; LÜ, A.; ZHU, A.; PENG, X.; WANG, Y. Perillaldehyde , a potential preservative agent in foods : Assessment of antifungal activity against microbial spoilage of cherry tomatoes. **LWT - Food Science and Technology**, v. 60, 2015.

ULEWICZ-MAGULSKA, B.; WESOŁOWSKI, M. Total Phenolic Contents and Antioxidant Potential of Herbs Used for Medical and Culinary Purposes. **Plant Foods for Human Nutrition**, v. 74, n. 1, p. 61–67, 2019.

ULUISIK, S.; SEYMOUR, G. B. Pectate lyases: Their role in plants and importance in fruit ripening. **Food Chemistry**, v. 309, p. 125559, 2020.

VALENTINES, M. C.; VILAPLANA, R.; TORRES, R.; USALL, J.; LARRIGAUDIÈRE, C. Specific roles of enzymatic browning and lignification in apple disease resistance. **Postharvest Biology and Technology**, v. 36, n. 3, p. 227–234, 2005.

- VALLVERDÚ-QUERALT, A.; JÁUREGUI, O.; MEDINA-REMÓN, A.; LAMUELA-RAVENTÓS, R. M. Evaluation of a method to characterize the phenolic profile of organic and conventional tomatoes. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 60, n. 13, p. 3373–3380, 2012.
- VECCHIA, P. T. Della; KOCH, P. S. Tomates longa vida: O que são, como foram desenvolvidos? **Horticultura Brasileira**, v. 18, n. 1, p. 03–04, 2017.
- VILANOVA, L.; TEIXIDÓ, N.; TORRES, R.; USALL, J.; VIÑAS, I. The infection capacity of *P. expansum* and *P. digitatum* on apples and histochemical analysis of host response. **International Journal of Food Microbiology**, v. 157, n. 3, p. 360–367, 2012.
- VILELA, J. N.; LANA, M. M.; NASCIMENTO, E. F.; MAKISHIMA, N. **O peso da perda de alimentos para a sociedade: o caso de hortaliças**. Horticultura Brasileira, Brasília, v. 21, n. 2, p. 141-143, 2003.
- VINHA, A. F.; BARREIRA, S.; COSTA, A. S. G.; ALVES, R. C.; A, M. B. P. P. O. Organic versus conventional tomatoes: Influence on physicochemical parameters, bioactive compounds and sensorial attributes. **Food and Chemical Toxicology**, v. 67, p. 139–144, 2014.
- WANG, J.; BI, Y.; ZHANG, Z.; ZHANG, H.; GE, Y. Reduction of latent infection and enhancement of disease resistance in muskmelon by preharvest application of harpin. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 59, n. 23, p. 12527–12533, 2011.
- WANG, S.; BAO, L.; SONG, D.; WANG, J.; CAO, X.; KE, S. Amino acid-oriented poly-substituted heterocyclic tetramic acid derivatives as potential antifungal agents. **European Journal of Medicinal Chemistry**, v. 179, p. 567–575, 2019.
- WANG, Y.; WANG, L.; LIU, F.; WANG, Q.; SELVARAJ, J. N.; XING, F.; ZHAO, Y.; LIU, Y. Ochratoxin A producing fungi, biosynthetic pathway and regulatory mechanisms. **Toxins**, v. 8, n. 3, p. 1–15, 2016.
- WATANABE, M.; OHTA, Y.; LICANG, S.; MOTOYAMA, N.; KIKUCHI, J. Profiling contents of water-soluble metabolites and mineral nutrients to evaluate the effects of pesticides and organic and chemical fertilizers on tomato fruit quality. **Food Chemistry**, v. 169, p. 387–395, 2015.
- WINTER, G.; TODD, C. D.; TROVATO, M.; FORLANI, G.; FUNCK, D. Physiological implications of arginine metabolism in plants. **Frontiers in Plant Science**, v. 6, p. 1–14, 2015.
- WU, R. N.; DANG, Y. L.; NIU, L.; HU, H. Application of matrix solid-phase dispersion-HPLC method to determine patulin in apple and apple juice concentrate. **Journal of Food Composition and Analysis**, v. 21, n. 7, p. 582–586, 2008.
- YANG, J.; JING, X.; WANG, T.; DI, J.; CHEN, L.; WANG, Y. Overactivation of glutamate consuming pathways in L-glutamate treated tomato fruits lead to resistance against *Alternaria Alternata*. **Postharvest Biology and Technology**, v. 169, p. 111311, 2020.

YELLE, S.; CHETELAT, R. T.; DORAIS, M.; DEVERNA, J. W.; BENNETT, A. B. Sink Metabolism in Tomato Fruit. **Plant Physiology**, v. 95, n. 4, p. 1026–1035, 1991.

YELLE, S.; HEWITT, J. D.; ROBINSON, N. L.; DAMON, S.; ALAN, B.; YELLE, S.; HEWITT, J. D.; ROBINSON, N. L.; DAMON, S.; BENNETT, A. B. Sink Metabolism in Tomato Fruit : III . Analysis of Carbohydrate Assimilation in a Wild Species Published by : **American Society of Plant Biologists (ASPB)**, v. 87, n. 3, p. 737–740, 2016.

ZAHEDIPOUR, P.; ASGHARI, M.; ABDOLLAHI, B.; ALIZADEH, M.; DANESH, Y. R. A comparative study on quality attributes and physiological responses of organic and conventionally grown table grapes during cold storage. **Scientia Horticulturae**, v. 247, p. 86–95, 2019.

ZANOR, M. I.; OSORIO, S.; NUNES-NESI, A.; CARRARI, F.; LOHSE, M.; USADEL, B.; KÜHN, C.; BLEISS, W.; GIAVALISCO, P.; WILLMITZER, L.; SULPICE, R.; ZHOU, Y. H.; FERNIE, A. R. RNA interference of LIN5 in tomato confirms its role in controlling brix content, uncovers the influence of sugars on the levels of fruit hormones, and demonstrates the importance of sucrose cleavage for normal fruit development and fertility. **Plant Physiology**, v. 150, n. 3, p. 1204–1218, 2009.

ZHANG, Z.; BI, Y.; GE, Y.; WANG, J.; DENG, J.; XIE, D.; WANG, Y. Multiple pre-harvest treatments with acibenzolar-S-methyl reduce latent infection and induce resistance in muskmelon fruit. **Scientia Horticulturae**, v. 130, n. 1, p. 126–132, 2011.

ZHENG, F.; ZHENG, W.; LI, L.; PAN, S.; LIU, M.; ZHANG, W.; LIU, H.; ZHU, C. Chitosan Controls Postharvest Decay and Elicits Defense Response in Kiwifruit. **Food and Bioprocess Technology**, v. 10, n. 11, p. 1937–1945, 2017.

ZHENG, Y.; SHENG, J.; ZHAO, R.; ZHANG, J.; LV, S.; LIU, L.; SHEN, L. Preharvest l - arginine treatment induced postharvest disease resistance to botrytis cinerea in tomato fruits. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 59, n. 12, p. 6543–6549, 2011.

ZIELINSKI, A. A. F.; ALBERTI, A.; BONA, E.; BORTOLINI, D. G.; BENVENUTTI, L.; BACH, F.; DEMIATE, I. M.; NOGUEIRA, A. A multivariate approach to differentiate yerba mate (*Ilex paraguariensis*) commercialized in the Southern Brazil on the basis of phenolics, methylxanthines and in vitro antioxidant activity. **Food Science and Technology**, v. 40, n. 3, p. 645–652, 2020.

APÊNDICE 1

Tabela 1 – Correlação linear do PCA da atividade antioxidante

	Fenois	DPPH fenois	DPPH car	ABTS fenois	OH fenois	ABTS car	OH car	Carotenoides
Fenois		0,4650	0,9931	0,0542	0,3340	0,9587	0,0340	0,5064
DPPH fenois	0,5349		0,2600	0,2222	0,0135	0,9268	0,3656	0,6554
DPPH car	-0,0006	-0,7399		0,6907	0,3396	0,4151	0,7651	0,4895
ABTS fenois	0,9457	0,7777	-0,3092		0,1296	0,9574	0,0317	0,4631
OH fenois	-0,6659	-0,9864	0,6603	-0,8703		0,9315	0,2502	0,5899
ABTS car	0,0412	-0,0731	0,5848	-0,0426	0,0684		0,8076	0,1513
OH car	-0,9659	-0,6343	0,2348	-0,9682	0,7497	0,1923		0,3215
Carotenoides	0,4935	0,3445	-0,5104	0,5368	-0,4100	-0,8486	-0,6785	

APÊNDICE 2

Tabela 2 – Correlação linear do PCA dos ácidos fenólicos

	Cafeico	Clorogênico	Cumárico	DPPH fenois	Hidroxibenzoico	ABTS fenois	OH fenois	Protocatecoico	Siríngico	Catequina	Quercetina	Rutina
Cafeico		0,0217	0,6132	0,5939	0,4731	0,9307	0,6638	0,6993	0,0388	0,0438	0,3653	0,1685
Clorogênico	0,9782		0,6609	0,4707	0,6378	0,7290	0,5146	0,5583	0,0025	0,0038	0,3241	0,2981
Cumárico	-0,3876	-0,3390		0,4444	0,9621	0,6666	0,4777	0,4440	0,6666	0,6939	0,5401	0,7069
DPPH fenois	-0,4060	-0,5292	-0,5555		0,9781	0,2222	0,0135	0,8432	0,4444	0,4195	0,0975	0,9092
Hidroxibenzoico	-0,5268	-0,3621	-0,0378	0,0218		0,3965	0,8595	0,3655	0,7033	0,7082	0,5542	0,1053
ABTS fenois	-0,0692	-0,2709	-0,3333	0,7777	-0,6034		0,1296	0,4070	0,6666	0,6455	0,5562	0,5603
OH fenois	0,3361	0,4853	0,5222	-0,9864	0,1404	-0,8703		0,7224	0,4777	0,4527	0,1772	0,9562
Protocatecoico	-0,3006	-0,4416	0,5559	0,1567	-0,6344	0,5929	-0,2775		0,5054	0,5103	0,9171	0,777
Siríngico	0,9611	0,9974	-0,3333	-0,5555	-0,2966	-0,3333	0,5222	-0,4945		0,0004	0,3280	0,3509
Catequina	0,9561	0,9961	-0,3061	-0,5804	-0,2917	-0,3544	0,5472	-0,4896	0,9995		0,3089	0,3607
Quercetina	0,6347	0,6758	0,4598	-0,9024	-0,4457	-0,4437	0,8228	0,0828	0,6719	0,69105		0,5097
Rutina	-0,8314	-0,7018	0,2931	0,0907	0,8946	-0,4396	0,0437	-0,223	-0,6392	-0,6392	-0,4902	

APÊNDICE 3

Tabela 3 – Parâmetros ótimos para atividade das enzimas

Parâmetros	INV	PG	PO	PPO	CAT	PAL
pH	5,0	4,0	5,5	6,0	5,0	8,8
Temperatura (°C)	40	50	40	30	30	30
Tempo reacional (min)	5	5	10	10	5	240

INV – invertase, PG – poligalacturonase, PO – peroxidase, PPO – polifenoloxidase, CAT – catalase, PAL – fenilalanina-amônia-liase

Tabela 4 – Correlação linear do PCA das atividades enzimáticas

	PO	PAL	CAT	INV	PG	PPO
PO		0,0049	0,2228	0,8907	0,7673	0,0005
PAL	0,9422		0,5230	0,7805	0,9518	0,0088
CAT	-0,5847	-0,3299		0,5733	0,4295	0,2994
INV	0,0729	-0,1473	-0,2928		0,0086	0,6921
PG	0,1564	-0,0321	-0,4019	0,9231		0,6248
PPO	0,9806	0,9222	-0,5117	0,2082	0,2557	

INV – invertase, PG – poligalacturonase, PO – peroxidase, PPO – polifenoloxidase, CAT – catalase, PAL – fenilalanina-amônia-liase