

Carlos Alexandre Ribeiro Lima

**RADIAÇÃO UV-C COMBINADA A EXTRAÇÃO ASSISTIDA
POR ULTRASSOM PARA OBTENÇÃO DE EXTRATOS DE
TOMATE CEREJA RICOS EM COMPOSTOS BIOATIVOS**

Dissertação submetida ao programa de Pós-graduação em Engenharia de Alimentos da Universidade Federal de Santa Catarina para obtenção do grau de Mestre em Engenharia de Alimentos.

Orientadora: Prof.^a Dr.^a Alcilene Rodrigues Monteiro Fritz

Coorientador: Dr. Josamaique Gilson Venerai

Coorientadora: Prof.^a Dr.^a Maria Margarida Cortez Vieira

Florianópolis
2017

Ficha de identificação da obra elaborada pelo autor através do Programa de Geração Automática da Biblioteca Universitária da UFSC.

Lima, Carlos Alexandre Ribeiro

Radiação UV-C Combinada a Extração Assistida por Ultrassom para Obtenção de Extratos de Tomate Cereja Ricos em Compostos Bioativos / Carlos Alexandre Ribeiro Lima ; orientadora, Alcilene Rodrigues Monteiro Fritz ; coorientador, Josamaique Gilson Veneral ; coorientadora, Maria Margarida Cortez Vieira. Florianópolis, SC, 2017.

136 p.

Dissertação (mestrado) - Universidade Federal de Santa Catarina, Centro Tecnológico. Programa de Pós-Graduação em Engenharia de Alimentos.

Inclui referências.

1. Engenharia de Alimentos. 2. Radiação ultravioleta. 3. Extração por ultrassom. 4. Atividade antioxidante. I. Fritz, Alcilene Rodrigues Monteiro. II. Veneral, Josamaique Gilson. III. Vieira, Maria Margarida Cortez. IV. Universidade Federal de Santa Catarina. Programa de Pós-Graduação em Engenharia de Alimentos. V. Título.

**“RADIAÇÃO UV-C COMBINADA A EXTRAÇÃO
ASSISTIDA POR ULTRASSOM PARA OBTENÇÃO DE
EXTRATOS DE TOMATE CEREJA RICOS EM
COMPOSTOS BIOATIVOS”**

Por

Carlos Alexandre Ribeiro Lima

Dissertação julgada para obtenção do título de **Mestre em Engenharia Alimentos**, área de Concentração de **Desenvolvimento de Processos da Indústria de Alimentos**, e aprovada em sua forma final pelo Programa de Pós-graduação em Engenharia de Alimentos da Universidade Federal de Santa Catarina.

Profa. Dra. Alcilene Rodrigues Monteiro Fritz
Orientador

Profa. Dra. Maria Margarida Cortez Vieira
Coorientadora

Dr. Josamaique Gilson Veneral
Coorientador

Prof. Dr. Bruno Augusto Mattar Carciofi
Coordenador

Banca Examinadora:

Profa. Dra. Alcilene Rodrigues
Monteiro Fritz

Dra. Kátia Suzana Andrade

Dr. Lindomar Alberto Lerin

Florianópolis, 22 de setembro de 2017.

*Um homem sábio adapta-se às circunstâncias,
assim como a água se molda ao recipiente que a contém.*

Provérbio chinês

AGRADECIMENTOS

Com imensa sinceridade e gratidão que agradeço a todos que de alguma maneira me deram apoio ou desejaram que o melhor acontecesse nesta curta, porém desafiadora etapa de minha vida onde conclui o mestrado.

Agradeço a minha mãe, Elizete, que esteve presente, mesmo que distante. Que me apoiou nos dias claros e nos dias sombrios. E que manteve minha dignidade de pé, com todo suporte necessário, mesmo no momento mais difícil de sua própria vida. Te Amo Mamãe!

Agradeço a minha irmã, Carolina Ribeiro, eu te amo princesa! Obrigado por tudo!

Nathana, meu amor, você esteve ao meu lado durante todos os dias desta etapa. Você me ergueu em cada queda, e no fim, sorriu, sorri e sorrirá comigo em cada uma das inúmeras conquistas que nossa parceria vai nos proporcionar ao longo dessa vida. Juntos somos mais fortes!

Agradeço aos meus amigos William Bruno e Weyne Moraes. Vocês, como sempre, foram imprescindíveis e fazem parte desta conquista.

A minha família, em especial, meu primo Klérisson, e sua esposa Crícia, pelo suporte financeiro dado nos momentos mais delicados, e a minha tia Vanja, pelo apoio.

A minha orientadora, Alcilene, agradeço por compartilhar seu conhecimento comigo, pela total confiança e paciência. Sabemos que no começo não foi fácil, e apesar da distância, sou grato pela sua disposição e pela orientação. Muito obrigado por tudo!

Agradeço ao meu coorientador, Josamaique, você foi fantástico! Serei para sempre grato por seu esforço e dedicação neste trabalho, e por compartilhar comigo um pouco deste seu mar de conhecimento. Espero poder trabalhar novamente com você.

Aos amigos de LATESC, obrigado pelo convívio diário e trocas de experiência. Pessoas incríveis trabalham ali e fazem deste ambiente um lugar maravilhoso. Agradeço também aos colegas do PROFI e ENGEBIO por estarem de portas abertas quando precisei.

Agradeço ao programa Erasmus Mundus que me proporcionou a oportunidade de realizar parte desse mestrado em Portugal. Por todo suporte e pela bolsa de estudos. Os aprendizados com a vida fora do país foram inúmeros.

Agradeço a prof.^a Margarida Vieira, pela coorientação em Portugal e por me receber tão bem. Obrigado pelo excelente ambiente de trabalho e pelo esforço em sempre ajudar. Serei eternamente grato!

Agradeço a Vera Gonçalves e Luisa Silva, pelo convívio diário e total suporte no laboratório. Pelos almoços na “salinha” e por compartilhar muitos momentos alegres! Obrigado por tudo, vocês são amigas que admiro e carregarei para sempre. Adorei nosso jantar de despedida, foi “muito giro”!

Agradeço a todos os novos amigos do Departamento de Engenharia Alimentar da Universidade do Algarve. Prof. Rui, pelo suporte na realização do trabalho. Prof.^a Célia, pelo suporte no laboratório de microbiologia. Neusa e Clarisse, por sempre terem sido tão prestativas e dispostas a ajudar. Aos demais professores, técnicos, e colegas, foi um prazer cada minuto que passei com vocês. Obrigado pela despedida!

Por fim, a tudo que vida me proporcionou nesta jornada. As experiências pessoais e profissionais foram inúmeras e fantásticas. Muito obrigado!

RESUMO

O presente trabalho teve como objetivo estudar a influência da radiação UV-C no teor de compostos bioativos de tomates cereja (*Lycopersicon esculentum* Mill.). Os tomates cereja foram submetidos a radiação UV-C em doses de 573 mJ/cm² (UV1) e 992 mJ/cm² (UV2). Após 7 dias de armazenamento a 20°C, os tomates foram liofilizados para obtenção do tomate em pó. Posteriormente, o pó de cada amostra foi dissolvido em etanol e os compostos antioxidantes foram obtidos pela tecnologia de Extração Assistida por Ultrassom (EAU). Os tempos de extração foram de 4, 8 e 12 minutos, utilizando-se três concentrações 1:10, 1:20 e 1:30 ($m_{\text{sóluto}}/V_{\text{solução}}$). O licopeno foi quantificado por cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE), e também foi determinado por método espectrofotométrico. A atividade antioxidante foi avaliada pelos métodos DPPH e ABTS. Os maiores rendimentos do extrato de 32,4 e 31,7%, foram obtidos na maior concentração de 1:30 (m/v). Quanto aos compostos ativos, as amostras irradiadas apresentaram 5,8 vezes mais licopeno que os extratos controle (sem tratamento UV). Os maiores teores de fenólicos foram para os extratos irradiados e extraídos nas condições de 4 e 8 minutos na concentração de 1:10 (m/v) apresentando valores de 41,5 (UV1) e 44,4 (UV2) mgEAG/g_{extrato}, respectivamente. Para atividade antioxidante (AA) (método ABTS) os melhores resultados foram obtidos para as amostras tratadas com maior dose de radiação, 4 e 8 minutos de extração e concentração de 1:20 (m/v). Pelo método do radical DPPH, o tratamento com radiação UV-C com dose de 593 mJ/cm² apresentou os melhores resultados para a AA. Para atividade antimicrobiana, os extratos, independente do tratamento com UV-C e das condições de extração, foram mais eficazes em inibir o crescimento das bactérias *Escherichia coli* e *Listeria innocua*. Os resultados alcançados neste trabalho mostram que a tecnologia UV-C foi eficaz para melhoria dos compostos antioxidantes de tomates cerejas nas doses estudadas.

Palavras-chave: Radiação UV; Extração por ultrassom; Compostos bioativos; Tecnologias emergentes.

ABSTRACT

The objective of the present work was to study UV-C radiation influence on the cherry tomato bioactive compounds content (*Lycopersicon esculentum* Mill). The cherry tomatoes were submitted to UV-C radiation at doses of 573 mJ/cm² (UV1) and 992 mJ/cm² (UV2). After 7 days of storage at 20°C, the tomatoes were freeze-dried to obtain the tomato powder. Subsequently, the powder from each sample was dissolved in ethanol and the antioxidant compounds were obtained by Ultrasound Assisted Extraction (UAE) technology. The extraction times were 4, 8 and 12 minutes, using three concentrations 1:10, 1:20, 1:30 ($m_{\text{solute}}/v_{\text{solvent}}$). Lycopene was quantified by high performance liquid chromatography (HPLC), and was also determined by spectrophotometric method. The antioxidant activity was evaluated by the DPPH and ABTS methods. The highest yields of extracts 32.4 and 31.7% were obtained in the highest concentration of 1:30 ($m_{\text{solute}}/v_{\text{solution}}$). As for the active compounds, the irradiated samples presented 5,8 times more lycopene than the control extracts (without UV-C treatment). The highest phenolic contents were obtained for the extracts irradiated and extracted in the conditions of 4 and 8 minutes in the concentration of 1:10 (m/v) presenting values of 41,5 (UV1) and 44,4 (UV2) mgEAG/g_{extract}, respectively. For antioxidant activity (AA) (ABTS method), the best results were obtained for the samples treated with the highest radiation doses, 4 and 8 minutes of extraction, and concentration of 1:20 (m/v). By the DPPH radical method, treatment with UV-C radiation at a dose of 593 mJ/cm² showed the best results for AA. For antimicrobial activity, extracts, regardless of treatment with UV-C and extraction conditions, were more effective in inhibiting the growth of the bacteria *Escherichia coli* and *Listeria innocua*. The results obtained in this work show that UV-C technology was effective for improving the antioxidant compounds of cherry tomatoes at the doses studied.

Keywords: UV radiation; Ultrasound extraction; Bioactive compounds; Emerging technologies.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 - Estrutura química do licopeno.	33
Figura 2 - Fases do processo de cavitação.	44
Figura 3 - Seleção e triagem da matéria-prima.	49
Figura 4 - Desenho do aparato experimental de radiação UV-C.	50
Figura 5 - Etapas (A) pré-liofilização, (B) pós-liofilização e (C) pó após moagem.	52
Figura 6 - Representação esquemática do sonificador de ponteira.	54
Figura 7 - Esquema geral da etapa experimental.	56
Figura 8 - Tubos em fase de repouso para separação de fases.	59
Figura 9 - Esquema da disposição dos discos nas placas e halos de inibição.	66
Figura 10 - Esquema da placa de microdiluição com 96 micropoços. ...	67
Figura 11 - Esquema geral da etapa analítica.	68
Figura 12 - Curvas experimentais de variação da dose de radiação (D_R) em função do tempo (t) de exposição realizados a 20°C, com seus respectivos coeficientes de determinação (R^2).	69
Figura 13 - Gráfico de Pareto com os efeitos lineares (L) e quadráticos (Q) do tempo e volume de solvente para a resposta do rendimento global obtido na EAU dos extratos de tomate cereja.	73
Figura 14 - Valores observados e valores preditos.	75
Figura 15 - Média do conteúdo de licopeno das amostras controle (C), e das amostras irradiadas UV1 e UV2.	77
Figura 16 - Cromatograma do padrão de licopeno (pureza $\geq 90\%$) para diluição inicial de 0,5 mg/L, com identificação do carotenoide trans-licopeno (leitura em 472 nm; Tr: 13,1 min.).	79
Figura 17 - Cromatograma do padrão de licopeno (pureza $\geq 90\%$) para diluição final de 75 mg/L, com identificação do carotenoide trans-licopeno (leitura em: 472 nm; Tr: 12,9 min.).	80
Figura 18 - Cromatograma do extrato UV1 8.2 com destaque para os picos dos carotenoides lidos nos comprimentos de onda entre 450 e 475 nm.	82
Figura 19 - Gráfico do teor de TFT nos extratos de tomate cereja, em função da combinação das condições de extração.	85
Figura 20 - Média da atividade antioxidante pelo método ABTS.	88

Figura 21 - Placas de teste negativo para <i>E. coli</i> e teste positivo para <i>B. cereus</i>	93
Figura 22 - Aparato experimental utilizado para radiação UV-C.	127
Figura 23 - Curva padrão de ácido gálico utilizada no cálculo de compostos fenólicos.....	129
Figura 24 - Curva padrão de Trolox utilizada na determinação de atividade antioxidante pelo método de ABTS.	129
Figura 25 - Curva padrão do licopeno para quantificação do teor de licopeno nos extratos de tomate.Fonte: Dados do autor (2017).....	131
Figura 26 - Cromatograma do padrão de licopeno (pureza $\geq 90\%$) para diluição de 1,0 mg/L, com identificação do carotenoide trans-licopeno (leitura em 472 nm; TR: 13,1 min.).	131
Figura 27 - Cromatograma do padrão de licopeno (pureza $\geq 90\%$) para diluição de 2,5 mg/L, com identificação do carotenoide trans-licopeno (leitura em 472 nm; TR: 12,9 min.).	132
Figura 28 - Cromatograma do padrão de licopeno (pureza $\geq 90\%$) para diluição de 5,0 mg/L, com identificação do carotenoide trans-licopeno (leitura em 472 nm; TR: 12,9 min.).	132
Figura 29 - Cromatograma do padrão de licopeno (pureza $\geq 90\%$) para diluição de 10 mg/L, com identificação do carotenoide trans-licopeno (leitura em 472 nm; TR: 12,7 min.).	132
Figura 30 - Cromatograma do padrão de licopeno (pureza $\geq 90\%$) para diluição de 25 mg/L, com identificação do carotenoide trans-licopeno (leitura em 472 nm; TR: 12,8 min.).	133
Figura 31 - Cromatograma do extrato C 4.2	133
Figura 32 - Cromatograma do extrato C 8.2	134
Figura 33 - Cromatograma do extrato C 12.2	134
Figura 34 - Cromatograma do extrato UV1 4.2	134
Figura 35 - Cromatograma do extrato UV1 12.2	135
Figura 36 - Cromatograma do extrato UV2 4.2	135
Figura 37 - Cromatograma do extrato UV2 8.2	135
Figura 38 - Cromatograma do extrato UV2 12.2	136

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 - Macronutrientes e carotenoides presentes no tomate cereja.	30
Tabela 2 - Subdivisões da amplitude da luz ultravioleta (UV) no espectro eletromagnético.....	37
Tabela 3 - Influência da luz UV-C sobre compostos bioativos de frutas in natura.....	43
Tabela 4 - Efeitos em alguns produtos de origem vegetal tratados com ultrassom.	48
Tabela 5 - Codificação geral das amostras.	57
Tabela 6 - Níveis e variáveis utilizadas no planejamento experimental.	58
Tabela 7 - Planejamento experimental fatorial completo 3 ² , com as variáveis tempo (T) e relação sólido/líquido (SL), variando em três níveis.	58
Tabela 8 - Tipos de micro-organismos utilizados.	64
Tabela 9 - Características de incubação dos micro-organismos.....	65
Tabela 10 - Doses e intensidades de radiação obtidos no intervalo de 60 minutos utilizando 5 e 10 lâmpadas.	70
Tabela 11 - Valores de umidade das amostras após etapa de liofilização.	70
Tabela 12 - Valores de rendimento global dos extratos de tomate cereja extraídas por ultrassom em diferentes condições de processo.	72
Tabela 13 - Estimativa do coeficiente de regressão e teste T sobre a resposta rendimento dos extratos de tomate cereja.	74
Tabela 14 - Análise de variância (ANOVA) do modelo completo da tabela de regressão para o rendimento dos extratos de tomate cereja. ..	74
Tabela 15 - Teor de licopeno para os extratos de tomate cereja (L. esculentum).	76
Tabela 16 - Quantificação de licopeno nos extratos de tomate cereja (L. esculentum Mill) com os tempos de retenção (Tr) em minutos e a área relativa (AR (%)) detectados por cromatografia líquida de alta eficiência (HPLC - DAD).	80
Tabela 17 - Teor de compostos fenólicos total (TFT), expressos em equivalentes de ácido gálico para os extratos de tomate cereja (L. esculentum).	83
Tabela 18 - Capacidade antioxidante determinado pelo método do radical ABTS para extrato de tomate cereja (L. esculentum).....	87

Tabela 19 - Avaliação do potencial antioxidante dos extratos de Tomate cereja (<i>L. esculentum</i>) através do método DPPH, expressos através da concentração efetiva a 50 % de atividade (EC50).....	90
Tabela 20 - Resultados do teste de difusão em ágar expressos em tamanho do halo de inibição (mm) para os extratos de tomate cereja (<i>L. esculentum</i>).	93
Tabela 21 - Concentração Mínima Inibitória (CMI) para os extratos de tomate cereja (<i>L. esculentum</i>).....	95

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

AA - Atividade Antioxidante
Abs - Absorbância
ABTS - {2,2'-azinobis (3-ethylbenzothiaziline-6-sulfonate)}
AED - Densidade de Energia Acústica (Acoustic Energy Density)
ANOVA - Análise de Variância
BHT - Butil-hidroxitolueno
CLAE - Cromatografia Líquida de Alta Eficiência
CMI - Concentração Mínima Inibitória
DMSO - Dimetilsufóxido
DPPH - (2,2- diphenyl-1-picrylhydrazyl)
EAG - Equivalente em Ácido Gálico
EAU - Extração Assistida por Ultrassom
EMBRAPA - Empresa Brasileira de pesquisa Agropecuária
FAO - Food and Agricultural Organization
FDA - Food and Drugs Administration
GL - Graus de liberdade
HPLC - High-performance Liquid Chromatography
INT - Cloreto de 2- (4-iodofenil) -3- (4-nitrofenil) - 5-feniltetrazolium
LMP - Lâmpada
MG - Minas Gerais
min. - Minutos
MQ - Média dos Quadrados
ORAC - Oxygen Radical Absorbance Capacity
PAL - fenilalanina amônia-lise
RMS - Root Mean Square
rpm - Rotações por minuto
RS - Rio Grande do Sul
RTE - Ready-to-Eat
SIC - Sem Inibição de Crescimento
SC - Santa Catarina
SQ - Soma dos Quadrados
TEAC - Trolox Equivalent Antioxidant Capacity
TFT - Teor de Fenólicos Totais
T.t.S - Temperatura, tempo, solvente
TxR - Taxa de radiação
UAE - Ultrasound Assisted Extraction
UALg - Universidade do Algarve
UHT - Ultra High Temperature

USDA - United States Department of Agriculture

UV - Ultravioleta

UV-C - Ultravioleta de ondas curtas

WHO - World Health Organization

LISTA DE SÍMBOLOS E UNIDADES

mJ/cm^2	Milijoule por centímetro quadrado
C	Amostra controle
UV1	Amostra irradiada 1
UV2	Amostra irradiada 2
W/m^2	Watts por metro quadrado
μg	Micrograma
β	Beta
α	Alfa
%	Percentual
CH_3	Radical monovalente metil
nm	Nanômetros
cm^3	Centímetro cúbico
UI	Intensidade Ultrassônica (<i>Ultrasound Intensity</i>)
mm	Milímetros
CaCO_3	Carbonato de Cálcio
m/v	Massa/Volume
C_{extrato}	Concentração de extrato
mM	Milimolar
UFC/mL	Unidade de Formação de Colônias por mililitro
R^2	Coefficiente de determinação
L	Efeito linear
Q	Efeito quadrático
I	Intensidade
D_r	Dose irradiada
t	Tempo de tratamento
m_i	Massa inicial da amostra
m_f	Massa final da amostra
Σ	Somatório
d_i	Diâmetro da peneira
d_s	Diâmetro médio superficial da partícula
π	Pi (3,14)
mmHg	Milímetro de mercúrio
r^2	Raio
mesh	Abertura da peneira (Série de Tyler)
v/v	Volume/Volume
kJ/m^2	Quilojoule por metro quadrado
J/m^2	Joule por metro quadrado
H_2	Gás hidrogênio

H_2O	Água
kHz	Kilohertz
W/mL	Watts por mililitro
X_0	Rendimento Global da extração
C_p	Calor específico do meio
P	Potência ultrassônica
m	Massa da amostra
D_t/d_f	Taxa inicial de variação de temperatura ao longo do tempo
$^{\circ}C.s^{-1}$	Graus celsius e segundos
mL	Mililitro
kg	Quilograma
W	Watts
OH●	Radical Hidroxil

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	23
1.1 OBJETIVOS	25
1.1.1 Objetivo Geral	25
1.1.2 Objetivos Específicos.....	25
2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	27
2.1 TOMATE	27
2.1.1 Tomate cereja	27
2.1.2 Características físicas e químicas do tomate cereja	28
2.2 ANTIOXIDANTES	31
2.2.1 Radicais livres e sua atividade oxidativa	31
2.2.2 Capacidade antioxidante	32
2.2.3 Licopeno	33
2.2.4 Métodos de avaliação da atividade antioxidante e quantificação de compostos	34
2.2.4.1 Cromatografia líquida de alta eficiência.....	35
2.3 POTENCIAL ANTIMICROBIANO.....	35
2.4 RADIAÇÃO ULTRAVIOLETA	36
2.4.1 Tecnologia de radiação UV-C	38
2.4.2 Mecanismo de funcionamento da radiação UV-C.....	39
2.4.3 Aplicação e efeitos da luz UV-C em vegetais.....	40
2.4.3.1 Luz UV-C em frutas e hortaliças frescas inteiras	40
2.5.1 Extração assistida por ultrassom (EAU)	45
2.5.1.1 Método calorimétrico para medição da energia ultrassônica ...	46
2.5.2 Uso do ultrassom em alimentos	47
3 MATERIAL E MÉTODOS	49
3.1 MATÉRIA-PRIMA.....	49
3.2 TRATAMENTO COM RADIAÇÃO ULTRAVIOLETA	49
3.2.1 Relação dose x tempo para definição das intensidades de radiação (I).....	51
3.3 PREPARO E CARACTERIZAÇÃO DAS AMOSTRAS.....	51
3.3.1 Liofilização.....	51
3.3.2 Teor de umidade.....	52
3.3.3 Determinação do diâmetro de partículas	53
3.4 EXTRAÇÃO DOS COMPOSTOS ATIVOS DE TOMATE.....	53
3.4.1 Cálculo da intensidade ultrassônica (I)	54
3.4.2 Evaporação do solvente	55
3.5 DESIGN EXPERIMENTAL E CODIFICAÇÃO DAS AMOSTRAS	55

3.6 DETERMINAÇÃO DO RENDIMENTO DA EXTRAÇÃO (%) ..	57
3.7 CONTEÚDO DE LICOPENO.....	59
3.8 DETERMINAÇÃO DO TEOR DE COMPOSTOS FENÓLICOS TOTAIS	60
3.9 ATIVIDADE ANTIOXIDANTE	62
3.9.1 Método do radical ABTS	62
3.9.2 Método do radical DPPH	63
3.10 ATIVIDADE ANTIMICROBIANA	64
3.10.1 Método de difusão em ágar	65
3.10.2 Determinação da concentração mínima inibitória (CMI)	66
3.11 DESIGN DA ETAPA ANALÍTICA.....	67
3.12 ANÁLISE ESTATÍSTICA	68
4 RESULTADOS E DISCUSSÃO	69
4.1 DETERMINAÇÃO DAS DOSES DE RADIAÇÃO EM RELAÇÃO AO TEMPO DE EXPOSIÇÃO DOS TOMATES	69
4.2 TEOR DE UMIDADE	70
4.3 DETERMINAÇÃO DO DIÂMETRO DE PARTÍCULAS	71
4.4 DETERMINAÇÃO DO RENDIMENTO GLOBAL DE EXTRATO	71
4.5 QUANTIFICAÇÃO DO CONTEÚDO DE LICOPENO	75
4.5.1 Teor de licopeno por espectrofotometria	75
4.5.1.1 Conteúdo de licopeno em função da EAU	78
4.6 TEOR DE FENÓLICOS TOTAIS (TFT)	83
4.7 ATIVIDADE ANTIOXIDANTE PELO MÉTODO ABTS	86
4.8 ATIVIDADE ANTIOXIDANTE PELO MÉTODO DPPH	89
4.9 ATIVIDADE ANTIMICROBIANA	92
4.9.1 Método de difusão em ágar	92
4.9.2 Método da Concentração Mínima Inibitória (CMI).....	95
5 CONCLUSÃO.....	99
SUGESTÕES PARA TRABALHOS FUTUROS	101
REFERÊNCIAS	103
APÊNDICE A – EQUIPAMENTO DE EMISSÃO DE LUZ UV-C.....	127
APÊNDICE B – DADOS EXPERIMENTAIS E ANALÍTICOS.....	129
APÊNDICE C – DADOS CROMATOGRÁFICOS (HPLC)	131

1 INTRODUÇÃO

Alimentos que possuem componentes com propriedades que exercem influência sobre as atividades fisiológicas e metabólicas no organismo humano, têm despertado cada vez mais o interesse dos consumidores que buscam uma dieta saudável.

Neste contexto, a incorporação de compostos bioativos em alimentos fresco e/ou processado tem sido objeto de estudo da indústria de alimentos. A irradiação por luz ultravioleta de ondas curtas (UV-C) tem sido utilizada afim de tornar mais disponível o conteúdo de compostos bioativo, principalmente da classe dos antioxidantes e ao mesmo tempo no tratamento para eliminação de microrganismos para conservação dos alimentos. Trata-se de uma tecnologia limpa não geradora de efluentes e de subprodutos, aspectos estes, importantes do ponto de vista alimentício e ambiental.

O tratamento pós-colheita com luz UV-C tem impactado de maneira benéfica vários parâmetros relacionados à qualidade de frutas e hortaliças frescas, reduzindo o ritmo de maturação, melhorando a firmeza e aumentando os níveis de pigmentação, (ARTÉS et al., 2009) além da inativação da microbiota presente na superfície do fruto. Estudos têm relatado a capacidade de manutenção e o incremento de compostos fenólicos de vegetais tratados com UV-C. Esses compostos têm sido relacionados aos benefícios na prevenção de doenças e potenciais efeitos antitumorais, anti-inflamatórios e anti-histamínicos no organismo humano (LÓPEZ-MALO e PALOU, 2005; KOUTCHMA e ORLOWSKA, 2012).

Frutas e hortaliças são alimentos associados a manutenção da saúde e prevenção de doenças degenerativa. O tomate, por exemplo, possui entre seus compostos, os carotenoides, sendo o licopeno o principal composto. Assim, o interesse pela manutenção dos compostos ativos em frutas e hortaliças após a colheita e durante o armazenamento até o consumidor final é grande, devido sua alta atividade antioxidante e consequente benefício à saúde. Esses benefícios têm despertado interesse de vários pesquisadores em avaliar o comportamento desses compostos frente aos processos pós-colheita. De acordo com Liu et al. (2012), tratamentos com radiação gama e ultravioleta podem aumentar o teor de compostos fenólicos de frutas. A radiação UV-C tem sido testada como tratamento pós-colheita para retardar senescência e crescimento de fungos em frutas e hortaliças, além do teor de vitaminas e conteúdo de fenólicos totais em tomates (CHARLES et al. 2009; LIU et al. 2012). Estudos recentes com radiação UV-C mostram um

promissor avanço na extensão da vida útil de produtos frescos e no tratamento pós-processamento para carnes prontas ao consumo (*RTE meats ou carnes Ready-to-Eat*), funcionando como alternativa viável em relação aos tratamentos térmicos tradicionais (KOUTCHMA, FORNEY e MORARU, 2009). De acordo com Tomás-Barberán e Espín (2001) a radiação UV atua nas enzimas que degradam os compostos fenólicos, afetando assim sua atividade benéfica ao organismo humano.

Por ser uma importante fonte de ácido ascórbico, carotenoides, flavonoides e vitamina E, o fruto de tomate apresenta grande potencial antioxidante qualificando-o a prevenir doenças em decorrência de seu consumo, sendo destacado o alto nível de licopeno em sua composição, molécula que contribui para a forte atividade antioxidante presente (DI MASCIO E KAISER SIES, 1989).

Associada as tecnologias de tratamento pós-colheita para melhoria e/ou manutenção desses compostos, as técnicas de extração e quantificação dos bioativos devem ser confiáveis de forma a assegurar os efeitos benéficos dos tratamentos. Assim, a técnica de extração ultrassônica tem despertado grande interesse nos meios acadêmico e industrial devido a uma melhora significativa na relação tempo/eficiência. Comparada às extrações convencionais, a extração por ultrassom apresenta maior eficiência em menor tempo. Além disso, é capaz de provocar ao longo do processo o rompimento da parede celular da matriz vegetal aumentando o poder de penetração do solvente e o contato entre as fases soluto/solvente, facilitando assim, a liberação dos compostos.

Quanto aos métodos de quantificação dos compostos fenólicos tem-se o método de Folin-Ciocalteu baseado na transferência de elétrons. Para determinação do potencial antioxidante tem-se os métodos que consideram o sequestro de radicais livres como DPPH (2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl) e ABTS {2,2'-azinobis (3-ethylbenzothiazilene-6-sulfonate)}. Há também métodos que consideram a reação de transferência de átomos de hidrogênio como ORAC (*Oxygen Radical Absorbance Capacity*) e β -caroteno/linoleato (CRUZ et al., 2016) e a cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE).

Levando em conta que nenhum ensaio isoladamente tem a garantia de determinar a atividade antioxidante de maneira a contemplar a exata capacidade total dessa atividade (KARADAG; OZCELIK; SANER, 2009; BADARINATH et al., 2010).

Assim, visando à obtenção de extratos com maior teor de compostos bioativos, a presente pesquisa teve por objetivo estudar os

efeitos da irradiação por luz UV-C de tomates cereja (*Lycopersicon esculentum* Mill) na composição dos extratos.

1.1 OBJETIVOS

1.1.1 Objetivo Geral

Estudar os efeitos da radiação UV-C associada a extração assistida por ultrassom nos compostos antioxidantes de tomates cereja (*Lycopersicon esculentum* Mill), e a efetividade dos extratos contra microrganismos.

1.1.2 Objetivos Específicos

- a) Aplicar diferentes doses de radiação (mJ/cm^2) e intensidades de radiação (W/m^2) UV-C em tomate cereja;
- b) Obter os compostos bioativos a partir do tomate irradiado e não irradiado, de tomates liofilizados (em pó), através da extração assistida por ultrassom (sonicador de ponteira)
- c) Analisar a atividade antioxidante dos extratos obtidos através dos métodos DPPH (2,2- diphenyl-1-picrylhydrazyl) e ABTS {2,2'-azinobis (3-etilbenzotiazolina-6-ácido sulfônico)};
- d) Determinação dos teores de licopeno presentes nos extratos de tomate com e sem tratamento com luz UV-C por cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE) e espectrofotometria;
- e) Determinação do teor de compostos fenólicos totais presentes nos extratos com e sem radiação UV-C, pelo método de Folin-Ciocalteu;
- f) Analisar a atividade antimicrobiana dos extratos para bactérias gram-positivas; gram-negativas e levedura.

2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

2.1 TOMATE

Originário da América Central e do Sul, o tomate (*Lycopersicon esculentum*) é hoje cultivado e consumido em quase todo o mundo, e em pesquisa realizada pelo Tomato News (2011) tem apresentado aumento médio de 1,1 milhão de toneladas/ano, no seu consumo de in natura e de derivados.

É provável que as primeiras espécies do tomateiro doméstico tenham sido cultivadas na região da América Central e posteriormente, difundida para o resto do mundo através dos colonizadores europeus em meados do século XIX, após a colonização das Américas. Porém os primeiros registros da popularização de seu consumo começaram a surgir pós-primeira guerra mundial, na Europa (ALVARENGA, 2004).

No Brasil o tomate é a segunda hortaliça mais consumida, perdendo apenas para a batata (ANUÁRIO DA AGRICULTURA BRASILEIRA, 2010) e tem o volume de sua cadeia produtiva comercial concentrada nos estados da Goiás, Bahia, Minas Gerais, e São Paulo (ANUÁRIO BRASILEIRO DE TOMATE, 2016).

Segundo dados do Anuário Brasileiro de Tomate (2016), a produção brasileira foi de 1.250 milhões de toneladas, produção que destacou o país como o oitavo maior produtor mundial. Estima-se que um terço desta produção é comercializada pela indústria na forma de produtos, tornando o Brasil o quinto maior produtor de tomate para fins industriais (WPTC, 2012).

2.1.1 Tomate cereja

Cultivado em regiões temperadas, tropicais e subtropicais de todo o mundo, o tomate apresenta hoje uma vasta diversidade fenotípica com grande variedade de combinações na cor, forma e tamanho do fruto, todas estas variações decorridas de uma soma de fatores como condições agroclimáticas somadas a forças micro evolutivas ao longo dos anos (RODRÍGUEZ-BURRUEZO et al., 2005; DIÉZ e NUEZ, 2008).

Uma das variedades de tomate mais populares no mundo é o tomate do tipo cereja (*Lycopersicon esculentum*) (WANG et al., 2008; ZHAO et al., 2010). Apresentando de 2 a 2,5 cm de diâmetro e com

pesos que variam de 5 a 30 g, o tomate cereja pode apresentar formato ovalado, piriforme ou redondo (WARNOK, 1988; FILGUEIRA, 2000; ALVARENGA, 2004).

No Brasil a produção de tomate cereja apresentou crescimento, seguindo a tendência da produção já mundialmente conhecida do tomate rasteiro (LENUCCI et al., 2006). Este aumento na produção tem sido impulsionado em decorrência do aumento do consumo *in natura* desta modalidade de tomate, e bem como, da visão moderna da culinária atual que considera o tomate cereja um produto exótico, sofisticado e ideal para utilização em pratos de alta gastronomia, como adorno e aperitivo, com sabor diferenciado das variedades de tomates mais populares (MACHADO et al., 2003).

2.1.2 Características físicas e químicas do tomate cereja

Sendo um ancestral do tomate cultivado, o tomate cereja (*Lycopersicon esculentum* Mill) é considerado uma espécie selvagem (TAYLOR, 1986). Devido a grande variedade de habitats e diversidades geográficas favoráveis ao crescimento do gênero *Lycopersicon*, uma ampla variabilidade de espécies selvagens de *Lycopersicon spp.* e *esculentum* desenvolveram-se ao longo do tempo (WARNOCK, 1991).

Sabe-se que o tomate do tipo cereja é rico em ácido ascórbico, compostos antioxidantes, carotenoides e compostos fenólicos e que tais substâncias ao serem ingeridas promovem benefícios à saúde, o que motiva a ampla aceitação do consumidor e atribui alto valor comercial ao produto (RAFFO et al., 2002; LENUCCI et al., 2006).

Em estudo desenvolvido por RAFFO et al. (2006), foram analisadas variações sazonais nos componentes antioxidantes de tomate cereja e concluíram que frutos do grupo cereja, em condições geográficas e estágio de crescimento anual similares, apresentaram alterações nos teores dos componentes antioxidantes. Com os resultados obtidos, os autores ressaltaram que as altas temperaturas da bacia do mediterrâneo afetam o acúmulo de licopeno no fruto.

Potencialmente aproveitada por sua excelente característica nutricional, a polpa do tomate é a principal parte utilizada pela cadeia de processamento industrial, enquanto as outras partes, muitas vezes, são descartadas. Entretanto, a pele e as sementes, geralmente destinadas ao setor de alimentação animal, são subprodutos nutricionalmente importantes. A pele é rica em licopeno e outros carotenoides, enquanto

as sementes e cascas acumulam carboidratos, minerais e proteínas (KNOBLICH; BRANDI; LATSHAW, 2005).

Para fins de estudo de composição química do tomate cereja, um fator importante a ser considerado é o estágio de maturação. A cor superficial do fruto maduro pode ser amarela, rosada, laranja ou vermelha, dependendo da espécie, e durante o amadurecimento dos frutos uma série de mudanças quantitativas e qualitativas ocorre na composição química (SUÁREZ; RODRÍGUEZ; ROMERO, 2008). Observam-se aumento das concentrações de alguns compostos como açúcar redutor, carotenos e ascorbato, e redução de outros como, clorofila e ácido clorogênico (CANO; ACOSTA; ARNAO 2003).

Diferentemente do tomate tradicional, o tomate cereja apresenta uma maior concentração de açúcares totais. As variedades cereja possuem doçura suficiente para chegar entre 9 e 12 °Brix, enquanto o tomate comum varia entre 4 e 6 °Brix (RODRIGUES, 2016). A Tabela 1 apresenta alguns dados obtidos da literatura para a composição química do tomate cereja, no entanto, como é claramente justificado pelos autores, os valores variam de acordo com a cultivar do tomate, a sua fase de maturação, e as condições de cultivo (GEORGÉ et al., 2011).

Tabela 1 - Macronutrientes e carotenoides presentes no tomate cereja.

Composição nutricional do Tomate Cereja		
	Macronutrientes	Referências
Carboidratos (%)	3 a 3,5	Moreiras et al., 2005
Proteínas (g.100g ⁻¹)	0,8 a 0,9	USDA, 2011; Pinho et al., 2008
Lipídios (g.100g ⁻¹)	0,2	Pinho et al., 2008; USDA, 2011
Açúcares (° Brix)	5 a 12	Pinho et al., 2008; Rodrigues, 2016
Umidade (%)	92,8	Suarez et al., 2007
Cinzas (g.100g ⁻¹)	0,5	Oke et al., 2005
Fibras (g.100g ⁻¹)	2,4	Pinho et al., 2008
Carotenoides		
β-Caroteno (μg)	449	USDA, 2011
α-caroteno (μg)	101	USDA, 2011
Licopeno (μg)	2573	USDA, 2011
Luteína + zeaxantina (μg)	123	USDA, 2011

Fonte: Adaptado de PINHO et al. (2011); CARVALHO (2012).

2.2 ANTIOXIDANTES

Substância natural ou sintética, o antioxidante está contido ou é adicionado em produtos visando o efeito de retardar ou prevenir a deterioração dos mesmos por intermédio da ação do oxigênio presente no ar. Na medicina e bioquímica, os antioxidantes são as enzimas ou substâncias orgânicas, a exemplo do β -caroteno e da vitamina E, com capacidade de ação contra a oxidação de tecidos animais (HUANG et al., 2005).

O consumo de alimentos ricos em substâncias com capacidade antioxidante é a principal forma de aumentar o potencial de defesa do organismo contra a oxidação de biomoléculas por radicais livres. Alimentos como cereais integrais, frutas, grãos e hortaliças são alguns dos exemplos de alimentos que fornecem os nutrientes e compostos bioativos necessários, que atuando juntamente com os antioxidantes enzimáticos irão reduzir os efeitos indesejáveis provocados pelo estresse oxidativo (FANG et al., 2002; VALTUEÑA et al., 2008).

2.2.1 Radicais livres e sua atividade oxidativa

Os radicais livres são definidos como espécies químicas compostas de moléculas ou átomos com capacidade de existir de maneira independente e que apresentam um ou mais elétrons desemparelhados em seu orbital externo. São altamente instáveis, muito reativos e com meia-vida curta, com a possibilidade de causar danos por reagirem com quase todas as moléculas do qual entram em contato (HALLIWELL e GUTTERIDGE, 1998; BARREIROS, 2006).

Gerados por fontes endógenas os radicais livres são produtos do metabolismo celular utilizados na conversão dos nutrientes dos alimentos em energia durante a sua liberação no processo de redução do oxigênio, e originam-se de processos biológicos orgânicos como a atividade de oxidases, reduções de flavinas e tióis, cicloxigenases, lipogenases e desidrogenases. Já os radicais provenientes das fontes exógenas são geralmente gerados pela poluição do ar, anestésicos, solventes orgânicos, tabagismo, radiações e pesticidas (MACHILIN e BENDICH, 1987; SOARES, 2002; VALKON et al., 2007).

A deficiência de mecanismos de defesa associados à produção excessiva de radicais livres, muitas vezes motivados pela desnutrição ou pela alimentação pobre em determinados tipos de alimentos, pode ser prejudicial, e conseqüentemente, induzir a oxidação de carboidratos, DNA, enzimas, lipídios de membranas e proteínas, levando a um

desequilíbrio e gerando danos decorrentes do estresse oxidativo (HALLIWELL, 1994; LANGSETH, 2000; VALKON et al., 2007).

A diminuição dos radicais livres retarda ou evita danos a componentes celulares diretamente relacionados à degeneração de células somáticas que induzem a doenças crônico-degenerativas e condições patológicas ocasionadas pelo avanço da idade como o câncer, doenças cardiovasculares, aterosclerose, doenças inflamatórias e cardiovasculares, mal de Alzheimer e Parkinson (LANGSETH, 2000; CERIELLO e MOTZ, 2004; SCALBERT et al., 2005; ROBERTS e SINDHU, 2009; TARKO et al., 2009).

Buscando o equilíbrio entre os mecanismos antioxidantes de defesa e os fatores que promovem oxidação presente no sistema biológico, as pesquisas tem avançado a procura de alimentos que contenham compostos que apresentem capacidade antioxidativa a fim de auxiliar no retardo e na prevenção de doenças crônicas (OZSOY et al., 2009; OKARTER et al., 2010).

2.2.2 Capacidade antioxidante

A capacidade antioxidante está relacionada com a aptidão de determinado composto em proteger organismos biologicamente susceptíveis às reações aos processos nocivos envolvendo espécies reativas de oxigênio e nitrogênio (ALVES et al., 2010). Os antioxidantes naturais ou sintéticos atuando como inibidores de reações e assumindo o papel de receptores de radicais livres dos ácidos graxos ou de doadores de hidrogênio são capazes de interferir na participação do oxigênio singlete (RIBEIRO e SERAVALLI, 2004).

Assim, o mecanismo de ação antioxidante inclui desde eliminar espécies reativas de oxigênio, manter o mecanismo antioxidante biológico regulado e protegido, além de suprimir a formação de espécies reativas quelando elementos-traço ou simplesmente pela inibição enzimática (HALLIWELL e GUTTERIDGE, 1998).

Várias substâncias classificadas, de maneira geral, como compostos bioativos apresentam capacidade antioxidante, a exemplo dos compostos fenólicos que detêm grande quantidade de funções de ordem fisiológica como, função antialérgica, antimicrobiana, antiarteriogênica, anti-inflamatória, antitrombótica, cardioprotetora e vasodilatadora, mas as funções antioxidantes desses compostos têm sido relatadas como sua principal atribuição (BALASUNDRAM; SUNDRAM; SAMMAN, 2006). Outro exemplo são os carotenoides,

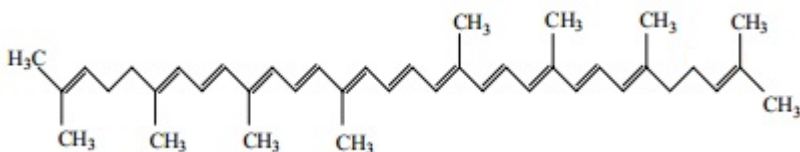
classificados como corantes naturais presentes em diversos vegetais como cenouras, espinafres, laranjas, tomates, dentre outros, quimicamente estruturados por ligações duplas conjugadas (STAHL e SIES, 1999).

Em função dessa estrutura insaturada, os carotenoides apresentam capacidade de sequestrar oxigênio e radicais peróxidos, além disso, estimulam a comunicação entre células elevando a resposta do organismo em relação à imunidade, modulam o metabolismo carcinogênico e inibem a proliferação celular (DI MASCIO et al., 1989; SIES e STAHL, 1995). Todos esses benefícios têm sido estabelecidos e reportados em estudos que relacionam o consumo de alimentos ricos em carotenoides com a redução do risco de doenças (GIOVANNUCCI, 1999; TAPIERO et al., 2004).

2.2.3 Licopeno

O licopeno é um dos 600 pigmentos carotenoides encontrados na natureza e um dos 25 encontrados no tecido e plasma humanos. Apresentando estrutura acíclica e simétrica, é constituído apenas por átomos de carbono e hidrogênio, contém onze duplas ligações conjugadas e duas ligações não conjugadas (KHACHIK et al., 2002; MCCLAIN; BAUSCH, 2003), conforme mostra a Figura 1.

Figura 1- Estrutura química do licopeno.



Fonte: Dados do autor (2016).

Responsável pela coloração vermelho alaranjada de frutas e vegetais, esse pigmento carotenóide tem efeito protetor direto contra radicais livres, mas não apresenta efeito provitamina A (BRAMLEY, 2000; LUGASI et al., 2003; NUNES; MERCADANTE, 2004), além disso é considerado um antioxidante eficaz na proteção da camada celular por reagir principalmente com o oxigênio molecular e com os radicais peróxidos (RAO; SHEN, 2002; SHAMI; MOREIRA, 2004).

O tomate apresenta em sua composição o licopeno e o β -caroteno em quantidades nutricionalmente relevantes, em média 2573 e 449 $\mu\text{g}/100\text{g}$ de fruto, respectivamente (GOULD, 1992). Variando de acordo com a coloração dos frutos de tomate, o licopeno faz-se mais presente em frutos maduros com coloração vermelha intensa. Já o β -caroteno encontra-se em maior quantidade no estágio de maturação inicial, onde a cor amarela/alaranjada fica mais evidente, logo a razão entre estes dois carotenoides está diretamente relacionada ao grau de maturação do tomate (GIOVANNUCCI, 1999).

Na literatura diversos estudos associam esses compostos à capacidade de reduzir consideravelmente o risco de cânceres: de garganta, pulmão, próstata, intestino, e doenças cardiovasculares (GIOVANNUCCI, 1999; TAPIERO et al., 2004).

2.2.4 Métodos de avaliação da atividade antioxidante e quantificação de compostos

Considerando a diversidade das estruturas químicas dos compostos antioxidantes, os diferentes tipos de radicais livres, as distintas formas de atuação nos organismos vivos, e seus mais variados mecanismos de ação, não há como existir apenas um método simplificado que possibilite a identificação e quantificação da atividade antioxidante, por este motivo vários ensaios são desenvolvidos com as mais variadas metodologias e fundamentos (CAETANO, 2009; ALVES et al., 2010).

Considerando as diversas reações químicas envolvidas, os principais métodos utilizados para quantificar a capacidade antioxidante podem ser classificados a partir do mecanismo de ação usado. A exemplo dos métodos que consideram o sequestro de radicais livres como DPPH (*2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl*) e ABTS (*2,2'-azino-bis(3-ethylbenzothiaziline-6-sulfonate)*). Métodos que consideram a reação de transferência de átomos de hidrogênio, a exemplo do método ORAC (*Oxygen Radical Absorbance Capacity*) e do método β -caroteno/linoleato (CRUZ et al., 2016), também são utilizados com a finalidade de avaliar a atividade antioxidante.

Levando em conta que nenhum ensaio isoladamente tem a garantia de determinar a atividade antioxidante de maneira a contemplar a exata capacidade total dessa atividade, é importante considerar a aplicabilidade de cada método avaliando os pontos fracos e fortes em relação ao tipo de amostra a ser analisada. Além disso, a título de

credibilidade é relevante considerar a realização de duas ou mais técnicas analíticas (KARADAG; OZCELIK; SANER, 2009; BADARINATH et al., 2010).

2.2.4.1 Cromatografia líquida de alta eficiência

Utilizada para analisar o perfil químico dos extratos, a cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE) ou High-performance Liquid Chromatography (HPLC). É um tipo de cromatografia que trabalha com a separação e quantificação de uma enorme variedade de compostos a partir da preparação de uma fase móvel eluída em altas pressões. Geralmente está técnica apresenta resultados eficientes em um curto intervalo de tempo (CIOLA, 1998).

Todo este processo analítico decorre por intermédio da ação de uma fase móvel, constituída de solvente, que atravessa a fase estacionária, constituída por partículas sólidas envolvidas em uma coluna. Por fim, as forças físicas e químicas envolvidas entre solutos e as duas fases propiciam a retenção dos solutos sobre a coluna e promovem a separação dos compostos.

A CLAE apresenta uma série de vantagens como alta resolução, excelência de resultados quantitativos, boa automação, e menor tempo de análise, em contrapartida tem um alto custo operacional, alto custo do equipamento, falta de um detector universal, e pouco uso para análises qualitativas.

2.3 POTENCIAL ANTIMICROBIANO

A biodiversidade vegetal e a sua possibilidade de fornecer recursos bioquímicos e genéticos que possam trazer benefícios com características bioativas e com potencial farmacêutico tem sido o foco de pesquisas que buscam com adiver resultados promissores (BASTOS et al., 2011). Um levantamento feito pela WHO (*World Health Organization*) afirmou que uma grande parcela da população é dependente da medicina tradicional para cuidados básicos de saúde, dando margem para possíveis substitutos com princípio ativo proveniente de extratos de plantas em detrimento dos químicos comumente utilizados (FARNSWORTH et al., 1984; AKELERE, 1992)

O interesse da população por alternativas que substituam o uso de antimicrobianos artificiais e conservantes químicos, principalmente relacionados à inibição e inativação de micro-organismos patogênicos e deteriorantes tem desafiado as indústrias bioquímicas e alimentares e

influenciado consideravelmente o aprofundamento de pesquisas (TAJKARIMI; IBRAHIM; CLIVER, 2010).

O uso excessivo de antibióticos tem desenvolvido novos micro-organismos cada vez mais resistentes culminando na busca por novas substâncias antimicrobianas justificando o uso dos produtos naturais (CRUZ et al., 2016). Vários compostos extraídos de plantas são relatados na literatura por apresentar grande potencial antimicrobiano, a exemplo dos grupos de ácidos fenólicos, fenóis simples, quinonas, cumarina, flavonas, flavonóis, taninos, terpenóides e óleos essenciais alcaloides (FESSENDEN, 1982; TORSSSEL, 1983; SCALBERT, 1991; TERRAS et al., 1993; STERN et al., 1996; O'KENNEDY; THORNES, 1997).

Diversos métodos qualitativos e quantitativos de avaliação da atividade antimicrobiana encontram-se disponíveis. Os que mais se destacam são os métodos qualitativos de difusão em ágar, que buscam identificar os extratos com potencial em inibir o crescimento de bactérias, e o método quantitativo de CMI (Concentração mínima inibitória), que afere a quantidade mínima de um extrato vegetal em inibir o crescimento de certo micro-organismo (VIEIRA, 2005; OSTROSKY et al, 2008).

2.4 RADIAÇÃO ULTRAVIOLETA

A luz UV é processada em uma ampla faixa de comprimento de onda numa região não ionizante do espectro eletromagnético, entre 100 nm (Raio X) a 400 nm (luz visível) (FDA, 2000). Esta amplitude é comumente subdividida em regiões as quais estão expressas na Tabela 2.

Tabela 2 - Subdivisões da amplitude da luz ultravioleta (UV) no espectro eletromagnético.

Tipo	Comprimento de onda (nm)	Efeitos
UV-V	100 - 200	Gama UV de vácuo. É absorvido por muitas substâncias e transmitida apenas no vácuo.
UV-C	200 - 280	Amplitude germicida conhecida por gama capaz de inativar bactérias, fungos e vírus.
UV-B	280 - 315	Pode provocar queimaduras na pele e eventualmente levar ao câncer de pele.
UV-A	315 - 400	Causa alterações na pele humana provocando bronzeamento.

Fonte: Adaptado de KOUTCHMA, FOURNEY e MORARU (2009).

A forma invisível de luz além da violeta foi detectada em 1801 pelo cientista alemão Johann Ritter que identificou a capacidade desta radiação em oxidar haletos de prata, sendo sua descoberta chamada de luz ultravioleta (UV) no final do século XIX (BALL, 2007). A tecnologia UV começou a ser utilizada nos Estados Unidos a partir de 1930 onde era aplicada em superfícies e no ar de ambientes estéreis, como hospitais. Com o aprofundamento dos estudos, foi adaptada para esterilização de embalagens de polietileno de alta densidade, a exemplo das embalagens de iogurte, copos plásticos e tampas plásticas de garrafas, todas utilizadas no sistema *Ultra High Temperature* (UHT) (BINTSIS et al., 2000).

Associados a isso, estudos recentes voltados para irradiação de luz UV mostram um promissor avanço no processamento de alimentos líquidos, na extensão da vida útil de produtos frescos e no tratamento pós-processamento para carnes prontas para consumo (*RTE meats ou carnes Ready-to-Eat*), funcionando como alternativa viável em relação aos tratamentos térmicos tradicionais (KOUTCHMA, FORNEY e MORARU, 2009).

Com a comprovação de seus efeitos biológicos e bioquímicos, a radiação UV passou a ter diversas aplicações no processamento de alimentos, sendo aplicada inicialmente no tratamento de água e sucos (FDA, 2000), e posteriormente em superfícies de frutas e hortaliças

umentando a resistência dos tecidos a micro-organismos deteriorantes (BINTSIS et al., 2000).

2.4.1 Tecnologia de radiação UV-C

A aplicação de luz UV-C, utilizada para conservação e/ou tratamento de alimentos, é considerado um método físico não térmico de preservação através da luz. Bem requisitada do ponto de vista ambiental, é uma tecnologia que prescinde o uso de produtos químicos além de não gerar efluentes nem subprodutos (CHANG et al., 1985).

O tipo de meio físico na qual a luz UV-C será aplicada exerce influência direta na sua capacidade de penetração, sendo o ar um meio de penetração mais sensível à radiação que os meios líquidos. O coeficiente de absorção (α em cm^{-1}) do meio delimita o grau de luz incidente que será ou não absorvido. Ainda em líquidos, uma maior intensidade de turbidez e cor reduz a penetração de luz através do sistema, devido ao aumento do coeficiente de absorção (GUEDES et al., 2009)

A *Food and Drugs Administration* (FDA) aprovou e certificou a utilização de luz UV no comprimento de onda de 254 nm (UV-C) como uma faixa de desinfecção segura para o tratamento de alimentos. A intensidade da radiação UV é expressa como intensidade de fluxo ou irradiância (W/m^2), sendo a dose de radiação uma relação de função da intensidade e do tempo de exposição, representada como exposição radiante (J/m^2) (GIESE, 1964).

A eficiência da tecnologia UV depende da relação correta entre as exigências específicas da tecnologia em conjunto com a escolha da fonte de radiação UV adequada e seus efeitos em longo prazo. Atualmente a fonte de radiação mais utilizada nos sistemas de desinfecção à base de UV tem sido a lâmpada de mercúrio de baixa e média pressão. Todavia, no ramo alimentício a preocupação com a liberação de mercúrio tem estimulado o desenvolvimento e validação de lâmpadas sem mercúrio que mantenham a mesma eficiência para inativação microbiana (KOUTCHMA, FORNEY e MORARU, 2009).

Várias adaptações e tipos de fontes UV alternativas têm sido desenvolvidas com o intuito de suprir as deficiências ou melhorar os resultados das lâmpadas de baixa e média pressão de mercúrio. Tecnologias de UV pulsado e lâmpadas de excímero são algumas das alternativas que têm sido desenvolvidas e têm apresentado resultados satisfatórios quanto à independência de sua eficiência em relação aos

efeitos de variação de temperatura. Entretanto, para que se comprovem seus efeitos positivos de aplicação em alimentos, há a necessidade de realização de estudos específicos (KOUTCHMA, FORNEY e MORARU, 2009).

2.4.2 Mecanismo de funcionamento da radiação UV-C

Em um reator UV, a descarga elétrica excita os átomos e íons presentes no gás da lâmpada, os quais emitem radiação no comprimento de onda de luz UV. Essa luz emitida interage com diversos componentes presentes no reator UV como, o material da lâmpada (vidro ou quartzo), as paredes do reator e a substância a ser tratada (líquida ou sólida). O comprimento de onda que atingirá os componentes químicos e micro-organismos sofre influência direta de todos estes componentes presentes no reator (KOUTCHMA, FORNEY e MORARU, 2009).

Incidindo no material por período de tempo previamente determinado, a radiação emitida pela lâmpada UV-C reduz a carga microbiana e inativa enzimas, através da modificação do DNA dos microrganismos, como já comprovado em frutas e hortaliças “frescas”, minimamente processadas, alimentos líquidos, além de esterilizar embalagens e superfícies de equipamentos (GONZALES-AGUILAR, 2004).

Quando utilizada para inativação de micro-organismos, a radiação UV-C demonstra desvantagens devido ao seu baixo poder de penetração. Assim, é necessário que a superfície de frutas frescas e minimamente processadas, por exemplo, estejam isentas de partículas de pó funcionando como proteção, ou seja, os micro-organismos a serem inativados devem estar diretamente expostos à radiação. Em contrapartida, a radiação UV-C é ideal para descontaminação de superfícies de embalagens, tampas e outros materiais que entrem em contato com os alimentos (LÓPEZ-MALO e PALOU, 2005).

A aplicação de luz UV-C em curto período de tempo operando em alta intensidade ou em longo período de tempo operando em baixa intensidade é o que influencia a taxa de redução microbiana. Essas doses para descontaminação atingirão o efeito final desejado levando-se em consideração o tipo de microrganismo e a linhagem (GUEDES et. al., 2009).

Uma série de fatores críticos são considerados quando se aplica luz UV-C em sucos de frutas com o objetivo de descontaminação. Considerando que a radiação ideal nestes casos seja menos de 400 J/m², a configuração geométrica do reator, o perfil de fluxo do produto e a

direção da radiação, além da configuração disposta no reator e a potência da radiação, são alguns dos fatores críticos relevantes (GUEDES et al., 2009).

No caso de líquidos, o número de recirculações ajudará a determinar a potência (dose) a ser aplicada, sendo considerado efeito do tipo cumulativo (REINEMANN et al., 2006). A radiação terá sua intensidade avaliada durante todo processo de aplicação (TRAN e FARID, 2004) contanto que o tempo de exposição seja plenamente suficiente para redução microbiana almejada (GUEDES et al., 2009).

2.4.3 Aplicação e efeitos da luz UV-C em vegetais

Altamente perecíveis, cerca 40% das frutas e hortaliças produzidas são desperdiçadas em alguma etapa desde sua colheita até o consumidor final. Como alternativa para reduzir tais perdas, seja do produto *in natura* ou na forma processada, e com o intuito de melhorar propriedades e características sensoriais, novas tecnologias têm sido desenvolvidas e aperfeiçoadas e vêm sendo aplicadas no processamento (KOUTCHMA e ORLOWSKA, 2012).

Alguns estudos têm demonstrado que a radiação UV-C, quando utilizada em certas doses em frutas e hortaliças tem interferido de maneira pontual na atividade enzimática destes produtos (MANZOCCO, DRI e QUARTA, 2009), mostrando que a tecnologia UV-C pode apresentar características de tratamento não termal para inativação de enzimas indesejáveis, além da sua conhecida utilização para inativação da atividade microbiana (KEYSER et al., 2008).

2.4.3.1 Luz UV-C em frutas e hortaliças frescas inteiras

O efeito microbicida em frutas e hortaliças tratadas com UV-C influencia diretamente à extensão da sua vida útil devido à ação contra os agentes deteriorantes presentes nas superfícies dos produtos. Para que estes resultados sejam obtidos em frutos inteiros é importante considerar a topografia do vegetal a ser tratado, bem como a necessidade da exposição à luz UV-C em todo o produto (KOUTCHMA e ORLOWSKA, 2012).

Entretanto, estudos realizados por Stevens et al. (2005) em diversos frutos expostos de maneiras distintas à radiação UV-C demonstraram que quando apenas as hastes destes frutos foram expostas, sem a necessidade de rotação dos frutos inteiros, eles

resistiram por mais tempo a podridões subsequentes. Estes resultados podem ter sido obtidos através de sinais captados via transdução do tecido receptor presente nas extremidades das hastes das frutas, e transmitidos de maneira sistemática para as inúmeras cadeias presentes no interior do tecido vascular do floema dos frutos (ARTSCHWAGER, 1924; STEVENS et al., 2005).

A aplicação de luz UV-C em frutas e hortaliças têm sido estudada e comprovada. O efeito hormético, por exemplo, que seria a dose mínima de luz UV-C aplicado em uma hortaliça a fim de se obter determinado resultado, foi relatado em pesquisas mostrando efeitos de estímulo à produção de enzima fenilalanina amônia-lise (PAL), que aumenta a resistência de vegetais em relação aos micro-organismos por induzir à formação de fitoalexinas, a exemplo de compostos fenólicos específicos (STEVENS et al., 1999).

Stevens et al. (1997, 1998, 1999) utilizaram luz UV-C para o tratamento de pêssegos e raízes de batata-doce e encontraram uma alta concentração de PAL em ambos. No pêssego, além do aumento da resistência, houve também aumento da vida útil, resultado obtido em função de uma considerável redução na síntese do etileno.

Além destes efeitos há também a influência da luz UV-C no teor de compostos bioativos. Estudos têm relatado a capacidade de manutenção e/ou incremento de compostos fenólicos de vegetais tratados com UV-C. O aumento no teor desses compostos é relevante devido aos potenciais efeitos antitumorais, anti-inflamatórios e anti-histamínicos no organismo humano (KOUTCHMA e ORLOWSKA, 2012).

González-Aguilar et al. (2001, 2004, 2007) observaram em seus experimentos o aumento da concentração de fenóis totais e compostos de poliamina em mangas e pêssegos irradiados com UV-C. Esta presença marcante de compostos de poliamina traz benefícios a consumidores e produtores, pois além de aumentar o valor potencialmente funcional do produto, aumenta a resistência dos tecidos dos frutos o que influencia diretamente no tempo de conservação, previne danos pelo frio e auxilia no controle do amadurecimento.

Alothman, Bhat e Karim (2009) também verificaram aumento dos compostos fenólicos totais pela exposição de abacaxi, banana e goiaba a luz UV-C em intervalos de tempo de 0, 10, 20 e 30 minutos.

Mirtilos expostos à radiação UV-C na dose de 4 kJ/m² apresentaram mais compostos fenólicos e aumento do potencial antioxidante ao final do armazenamento refrigerado, comparativamente

aos mesmos frutos irradiados na dose de 2 kJ/m² e para não irradiados (NUNES, 2015).

Efeitos não tão positivos foram obtidos para antocianinas totais em morangos. Em distintas doses de irradiação UV-C de 0,43 a 4,3 kJ/m², o acúmulo de antocianinas totais foi pouco expressivo em morangos armazenados por 4 dias a 20 °C e por 15 dias a 4 °C (ERKAN, WANG E WANG, 2008 e LI et al., 2014). Já para mirtilos, Wang, Cheng e Wang (2009) relataram que em doses de 4 kJ/m² a radiação UV-C resultou em aumento imediatamente após a exposição. Porém a concentração verificada após este aumento não permaneceu já que com o tempo a quantidade de antocianinas nos frutos irradiados diminuiu quando comparado ao controle.

Em tomates tratados com UV-C associados a 1-metilciclopropileno, Tiecher et al. (2013) verificaram aumento significativo no teor de carotenoides totais e carotenoides individuais (betacaroteno, licopeno e fitoeno), sendo esse aumento relatado ao longo do tempo de armazenamento.

Em estudo realizado em suco produzido com uvas cv. Bordô submetidos a tratamento com radiação UV-C foi obtido aumento significativo de fenólicos totais, antocianinas totais e atividade antioxidante em relação ao suco não tratado, mostrando a influência da tecnologia no melhoramento de compostos bioativos em bebidas à base de frutas (LEITÃO, 2012).

Seja em altas ou baixas doses e intensidades de radiação, ou em diferentes condições de estocagem e aplicação, os resultados demonstram potencialização no conteúdo de diversos compostos bioativos. A Tabela 3 reuni alguns dos dados presentes na literatura que confirmam a atuação da radiação UV-C.

Tabela 3 - Influência da luz UV-C sobre compostos bioativos de frutas in natura.

Tipo de fruto	Componente Bioativo	Aumento \cong (%)	Referência
Manga	Fenóis	27%	González-Aguilar et al. (2007)
Morango	Antocianinas	35%	Baka et al. (1999)
Morango	Fenólicos totais	26%	Erkan et al. (2008)
Tomate	Atividade antioxidante	54%	Bravo et al. (2012)
Tomate	Fenólicos Totais	6%	Jagadeesh et al. (2011)
Tomate	Ácido ascórbico	5%	
Tomate	Fenólicos Totais	19%	Liu et al. (2012)
Tomate	Flavonóides	30%	

Fonte: Elaborado pelo autor (2017).

O principal mecanismo de ação da radiação UV-C em vegetais dá-se através do estresse provocado pela luz UV nos tecidos das hortaliças e frutas, provocando estímulos a biossíntese dos metabólitos secundários defensivos com atividade antioxidante. Estes efeitos foram constatados, principalmente nos compostos fenólicos em uvas e tomates (CANTOS et al., 2000; JAGADEESH et al., 2009; LIU et al., 2009) e no licopeno em tomates (LIU et al., 2009).

Com isso, a utilização da tecnologia UV-C em frutas e hortaliças frescas visando o aumento dos compostos bioativos tem apresentado resultados positivos, porém mais estudos são necessários para que se encontre um maior padrão quanto as melhores doses, intensidade de energia e tempo de aplicação (PATARO et al., 2015), bem como a ênfase especial nas possíveis alterações provocadas pela radiação UV-C nos antioxidantes e compostos bioativos individuais, como os carotenóides e seus isômeros.

2.5 PRINCÍPIOS DO ULTRASSOM

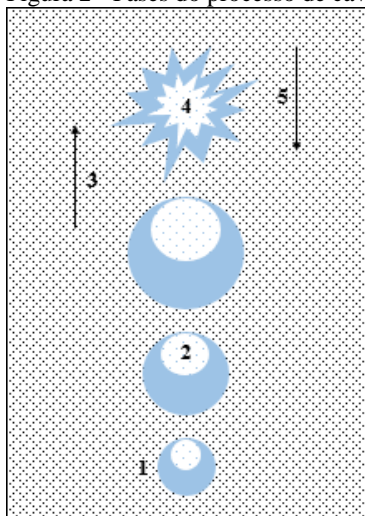
No início da década de 80 alguns estudos realizados por diversos cientistas davam os primeiros indícios da descoberta do efeito conhecido como ultrassom. Curie, em 1980, passou a identificar tais características através do estudo do efeito do piezelétrico e alguns anos mais tarde, Thomycroft e Barnaby investigaram a implosão de bolhas e

cavidades geradas na água através da propulsão de mísseis, efeito que ficou conhecido como cavitação (SUSLICK, 1989).

O ultrassom é classificado como um fenômeno físico (SUSLICK, 1989), em que as ondas ultrassônicas, de maneira rápida, causam oscilações de expansão e compressão no arranjo molecular envolvendo forças mais elevadas que a tensão superficial, e tem como resposta as forças de atração e repulsão intermoleculares (TARLETON, 1998; BUCKIN et al, 2003; FUENTE-BANCO, 2006).

Através da formação, crescimento e implosão de bolhas de gás em uma solução, as ondas de ultrassom geram a cavitação acústica (NASCENTES et al. 2001). Em meios aquosos as bolhas criadas por rarefação sofrem colapsos agressivos durante a compressão criando então ondas de choque intensas (STANGA, 2010). Na Figura 2 é representado um desenho esquemático do processo de cavitação.

Figura 2 - Fases do processo de cavitação.



Fonte: Adaptado de Martines et al. (1999).

Onde, (1) representa a partícula sólida suspensa em meio líquido; que sofrerá os efeitos da pressão no gás aprisionado na fenda da partícula (2) e na sequência ocorrerá o crescimento da bolha durante o ultrassom devido ao aumento da cavidade (3), acarretando na implosão da partícula ao chegar no seu tamanho crítico (4). Por fim, ocorrerá a rápida supressão, seguida de aquecimento local (5).

Na representação acima, nota-se que as bolhas geradas através da cavitação passam a ter uma maior área superficial durante o processo de expansão, com isso, há o aumento da difusão do gás. Entretanto, em certo ponto a energia ultrassônica não é suficiente para manter a fase de vapor na cavidade da bolha, então ocorre a implosão.

Outro processo gerado pelo ultrassom é a sonólise. Envolvendo a água por exemplo, este fenômeno é responsável pela cisão homolítica de ligações O-H levando à produção direta dos radicais livres $H\bullet$ e $HO\bullet$ nas moléculas de água e produção de peróxido de hidrogênio no meio (KORN; ANDRADE; BORGES, 2003).

As altas temperaturas geradas durante o processo de cavitação e o conseqüente colapso das bolhas são extremamente dependentes da pressão de vapor do solvente. Assim, moléculas de solventes com altas pressões de vapor (moléculas de água) podem penetrar nas cavidades e, no momento do colapso, sofrerem sonólise, resultando na formação de novos produtos (H_2 e H_2O_2) (BORGES; KORN, 2002).

2.5.1 Extração assistida por ultrassom (EAU)

A extração assistida por ultrassom tem despertado grande interesse nos meios acadêmico e industrial devido a uma melhora significativa na relação tempo/eficiência. Comparada às extrações convencionais, a extração por ultrassom apresenta maior eficiência em menor tempo. Além disso, é capaz de provocar ao longo do processo o rompimento da parede celular da matriz vegetal aumentando o poder de penetração do solvente e o contato entre as fases soluto/solvente, facilitando assim, a liberação dos extratos (MA et al, 2008).

Definido como gerador de ondas de som com frequências que excedem o limite de audição do ouvido humano (~20 kHz), o ultrassom é utilizado na fauna por animais como golfinho e morcego que através da emissão de frequências de ondas sonoras conseguem navegar. O ultrassom tem sido utilizado em produtos alimentícios com a finalidade de maximizar a qualidade, garantir a segurança e minimizar a cadeia de processamento sendo classificado como uma tecnologia emergente (KNOOR et al., 2011).

A extração assistida por ultrassom de um determinado composto a partir de uma matriz específica é um mecanismo complexo que envolve uma série de combinações de processos bioquímicos, químicos, mecânicos e físicos. Durante a extração envolvendo solvente e matriz sólida, danos superficiais são causados através dos micro jatos e ondas de choque, a transferência de massa é melhorada através do

fluxo acústico e da mistura violenta, e a área superficial da matriz é aumentada devido às colisões de interpartículas de alta velocidade e consequente desintegração da matriz sólida. Todas estas ocorrências durante o processo de extração irão influenciar tanto no rendimento quanto nas atividades biológicas associadas (TIWARI, 2015).

2.5.1.1 Método calorimétrico para medição da energia ultrassônica

A necessidade de conhecer o tamanho da energia aplicada pelo sistema de extração por ultrassom é de grande importância. Tendo em vista a versatilidade de potências oferecidas pelos equipamentos e as dificuldades de medição em decorrência da absorção, cavitação, e reflexão promovidas no processo, alguns métodos foram desenvolvidos para possibilitar a revelação desta condição.

Utilizado para quantificar a energia acústica utilizada em um sistema de extração por ultrassom, o método calorimétrico parte de uma situação empírica, onde há uma estimativa sensivelmente próxima da energia introduzida no sistema, e que a EAU não apresenta qualquer perda de calor. Seguindo estes critérios, o nível de energia inserido no sistema pode ser definido como intensidade ultrassônica (UI) em W/m^2 , ou densidade de energia acústica (AED) em W/m^3 ou W/mL . A partir, da potência (W) incluída no sistema pode-se medir UI, assim, a partir da Equação 1 para determinação de P pode ser revelado AED ou UI pela divisão do resultado pela área da face emissora do transdutor, conforme a Equação 2 ou pela Equação 3 tendo como parâmetro a densidade a partir do volume total (TIWARI, 2015).

$$P = mC_p \left[\frac{dT}{dt} \right]_{r=0} \quad (1)$$

$$UI = \frac{P}{A} \quad (2)$$

$$AED = \frac{P}{V} \quad (3)$$

Onde:

$\left(\frac{dT}{dt} \right)$: Taxa inicial de variação de temperatura ao longo do tempo ($^{\circ}C \cdot s^{-1}$). Determinado a partir da adaptação dos dados de temperatura *versus* tempo, utilizando um termopar padrão contra o tempo;

C_p : Calor específico do meio ($KJ \cdot kg^{-1} \cdot ^{\circ}C^{-1}$);

P: Potência ultrassônica (W);
m: Massa da amostra (kg);
V: volume da amostra (mL).

2.5.2 Uso do ultrassom em alimentos

O ultrassom ou processamento ultrassônico tem provado ser uma tecnologia não térmica inovadora e eficaz, sendo potencialmente aplicável nos mais variados processos envolvendo produtos alimentares termossensíveis ou não, por exemplo, na inativação enzimática, na inibição de microrganismos, na extração de compostos bioativos, na homogeneização de sucos, em processos de esterificação, emulsificação, e na desidratação de frutas (BURGOS, 1995; VERCET; LOPEZ, 1997; LÓPEZ; VILLAMIEL; DE JONG, 2000; RIERA et al., 2004; WEN et al., 2007; FERNANDES et al., 2008; CUCHEVAL; CHOW, 2008; LÓPEZ; HUNTER et al., 2008; TIWARI et al., 2009).

No geral, é relatado que a extração assistida por ultrassom é tecnicamente eficaz em termos de aumento de rendimento e qualidade dos extratos, além de reduzir drasticamente o tempo de trabalho (AWAD et al., 2012). Através de vários estudos, as distintas aplicações industriais da técnica de EAU têm sido melhoradas em termos de intensificação de extração de compostos bioativos a partir de ervas, óleos, proteínas de soja e sementes (MASON et al., 1996; VILKHU ET AL., 2008; SORIA et al., 2010). Desta maneira, nos últimos anos, uma gama de compostos foi extraída pela técnica de ultrassom, procedentes de vegetais diversos, com relevância para a produção comercial de compostos bioativos na indústria alimentar (PICÓ, 2013).

Não obstante a técnica de EAU como um todo, os efeitos químicos e físicos provocados pela cavitação acústica também podem ser vantajosos ou desvantajosos, a depender do processo, do tipo de alimento, tipo de solvente, do tempo, e da potência de aplicação. Quando o radical hidroxil (OH•) é produzido, por exemplo, pode afetar a qualidade de algumas substâncias alimentares, mas também pode melhorar a funcionalidade de alguns ingredientes (ASHOKKUMAR et al., 2008).

Apesar das inúmeras vantagens apresentadas por essa tecnologia inovadora, como desvantagem alguns alimentos podem sofrer certas alterações após a exposição ao ultrassom. Esses possíveis podem interferir na qualidade dos produtos, principalmente em termos sensoriais, na biodisponibilidade de alguns compostos, dentre outros

efeitos ainda não conhecidos. A Tabela 4 apresenta trabalhos que mostram alguns efeitos, relativos ao uso da técnica de EAU em diferentes matrizes vegetais.

Tabela 4 - Efeitos em alguns produtos de origem vegetal tratados com ultrassom.

Matriz alimentar	Parâmetros	Considerações	Referência
Tomate	Licopeno	Isomerização de licopeno: aumento de 14% dos isômeros <i>cis</i> e 76% de redução dos isômeros <i>trans</i> .	Eh e Teoh (2012)
Polpa de Tomate	Licopeno	Redução da bioacessibilidade do licopeno e mudanças na viscosidade	Anese et al. (2013)
Suco de melancia	Ácido ascórbico, fenólicos e licopeno	Degradação de ácido ascórbico, fenólicos e licopeno	Rawson et al. (2011)
Toranja vermelha	Rendimento e licopeno	Aumento do rendimento e isomerização do licopeno	Xu e Pan (2013)
Suco de Tomate	Cor e ácido ascórbico	Modificação na cor e degradação do ácido ascórbico	Adekunte et al. (2010)
Mirtilos	Antocianinas e fenóis totais	Diminuição de fenólicos e conteúdo de antocianinas	Stojanovic e Silva (2007)

Fonte: Adaptado de OLIVEIRA (2014).

Diante disso, além do estudo acerca da tecnologia ultravioleta este trabalho busca avaliar o efeito conjunto da radiação e da extração assistida por ultrassom em obter extratos com uma maior quantidade de compostos bioativos disponíveis em relação extratos obtidos por ambas tecnologias separadamente.

3 MATERIAL E MÉTODOS

3.1 MATÉRIA-PRIMA

Os tomates cereja (*Lycopersicon esculentum* Mill) foram adquiridos no mercado local varejista de Florianópolis-SC, sendo produzidos em Pouso Alegre – MG, sob a inscrição rural/estadual de nº 0016915490094 conforme rotulagem. Os frutos foram selecionados quanto a integridade física, grau de maturação e tamanho. Em seguida, a matéria-prima foi higienizada em água corrente e separada em três lotes contendo 3 kg de tomate e acondicionados em embalagens PET vazado a 20°C. A Figura 3 mostra os tomates durante a seleção.

Figura 3 - Seleção e triagem da matéria-prima.



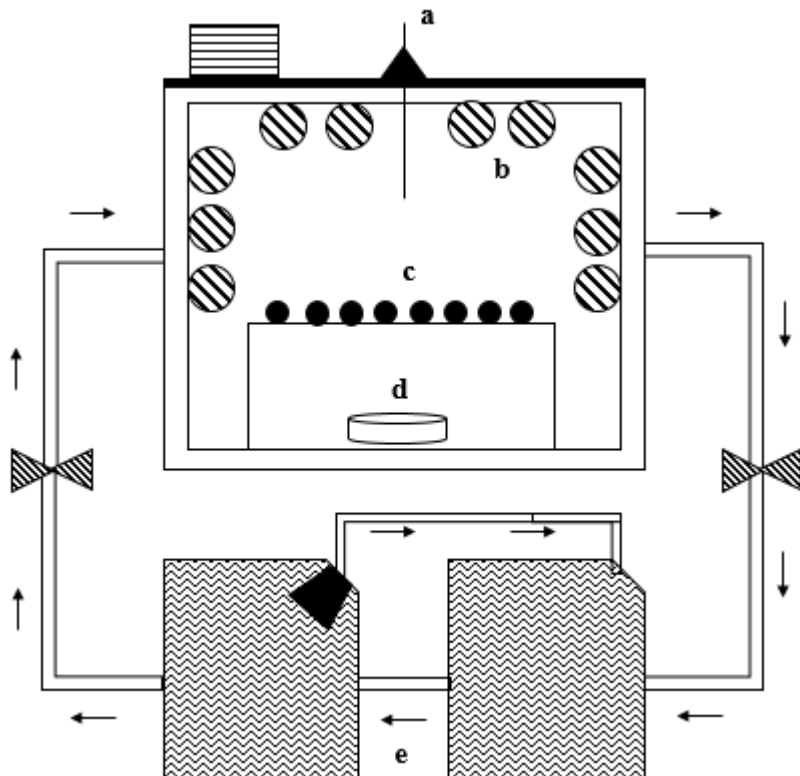
Fonte: Elaborado pelo autor (2016).

3.2 TRATAMENTO COM RADIAÇÃO ULTRAVIOLETA

As amostras controle (C), e amostras submetidas ao tratamento UV-C (UV1 e UV2), sob intensidade de 1,5 e 3,0 W/m², em doses de 573 e 992 mJ/cm², respectivamente.

O aparato experimental utilizado para os tratamentos com luz UV-C consiste de uma caixa de aço inoxidável 40x40x40 cm, composta por dez lâmpadas germicidas (Osram - 24 W), ligadas em série, com sistema de medição de temperatura e refrigeração acoplados, conforme mostrado pela Figura 4.

Figura 4 - Desenho do aparato experimental de radiação UV-C.



Fonte: Elaborado pelo autor (2016).

As leituras da temperatura interna do sistema foram realizadas através de termopar Tipo J (Salcas Ind. e com., Brasil) (a). As lâmpadas germicidas (b) emitiram radiação UV-C nos tomates (c) colocados separadamente sobre uma plataforma de aço inoxidável. A manutenção das doses de radiação foi obtida através de radiômetro portátil (d) UV-Integrator - Modelo UV int 150+ (Integration Technology Ltd., United Kingdom), e a temperatura do sistema, controlada através de banhos termostáticos (e) acoplados ao equipamento com circulação de etilenoglicol.

3.2.1 Relação dose x tempo para definição das intensidades de radiação (I)

Os valores de intensidade de radiação foram gerados a partir da equação da reta (tempo de exposição versus radiação), possibilitando a escolha do tempo de tratamento de 60 minutos. Nos ensaios realizados para determinação da intensidade de radiação foram pré-estabelecidos os tempos máximos de tratamento baseados no número de lâmpadas que foram utilizadas. Curvas de radiação foram obtidas com 10, 5, 4, 3, e 2 lâmpadas, para tempos que variaram de (5 a 60 minutos).

As radiações medidas foram obtidas com auxílio de um radiômetro portátil (item 3.2). Cabe salientar que, previamente aos experimentos com os tomates, testes com o radiômetro foram realizados em toda a superfície do suporte para os frutos, a fim de se evitar variação ou irradiância (kJ/m^2) na superfície dos tomates.

O tempo de tratamento, em minutos, foi definido a partir da regressão linear da curva de radiação durante todo o período de tratamento, realizado com o auxílio de planilha eletrônica, enquanto a intensidade de radiação (W/m^2) foi determinada pela razão entre o tempo (min) e a dose (mJ/cm^2) conforme a Equação 4.

$$I = \frac{(D_r * 10)}{t} \quad (4)$$

Onde:

I: Intensidade de radiação (W/m^2)

D_r: Dose irradiada (mJ/cm^2)

t: Tempo de tratamento (segundos)

3.3 PREPARO E CARACTERIZAÇÃO DAS AMOSTRAS

Para obtenção dos extratos para avaliação dos compostos bioativos de tomates tratados por UV-C, os mesmos foram desidratados por liofilização e moídos, conforme descrito a seguir.

3.3.1 Liofilização

As amostras UV1 e UV2 de tomates irradiados e a amostra controle (C) foram acondicionadas por 7 dias, pois já se encontravam maduros, a $20 \pm 0,5$ °C. Após o período de estocagem os tomates foram cortados de forma longitudinal, as sementes removidas, e foram

imediatamente congelados a (-55°C). Em seguida, liofilizados por 48 horas em liofilizador de bancada (Modelo L101 - Liotop®, Brasil). As amostras secas foram trituradas em moinho de facas Tipo Willey (De Leo® Equipamentos laboratoriais, Brasil) para obtenção do pó. As amostras in natura, secas e na forma de pó estão mostradas na Figura 5 (A, B, C, respectivamente).

Figura 5 - Etapas (A) pré-liofilização, (B) pós-liofilização e (C) pó após moagem.



Fonte: Dados do autor (2016).

3.3.2 Teor de umidade

A determinação do teor de umidade para o tomate cereja em pó foi realizado seguindo o método (IAL 2008). As amostras foram colocadas em estufa à vácuo a 70°C e pressão reduzida a ≤ 100 mmHg por determinado período de tempo, até peso constante.

A massa das três amostras foi determinada em balança analítica (AY220, SHIMADZU), sendo pesados 3 g de cada amostra em cápsulas de alumínio previamente aquecidas em estufa (De Leo, RS/Brasil) a 70°C por 1 hora, resfriadas em dessecador até atingir temperatura ambiente e pesadas. Em seguida as amostras foram secas em estufa a vácuo (sob temperatura de 70°C e vácuo ajustado em 30 mmHg por 24 horas. Posteriormente as amostras foram resfriadas em dessecador até temperatura ambiente e as massas aferidas. Para o cálculo do teor de umidade foi utilizada a Equação 5.

$$\% \text{ umidade} = \left(\frac{100 \times N}{P} \right) \quad (5)$$

Onde:

N: n° em gramas de umidade (Perda de massa em gramas)

P: n° de gramas da amostra

A determinação de umidade das amostras foi realizada em triplicata e o resultado expresso como média \pm desvio padrão.

3.3.3 Determinação do diâmetro de partículas

Para determinação do perfil granulométrico das partículas foi realizado um ensaio através de peneiradora vibratória (Retsch – AS 20, Germany) com 40g do tomate cereja em pó durante 5 minutos. A amostra foi colocada sobre peneiras de 30 a 140 *mesh* (Retsch – Test Sieve). A massa das frações retidas em cada peneira foi pesada e o diâmetro médio de partículas foi calculado de acordo com as Equações (6) e (7), propostas por GOMIDE (1980).

$$\bar{d}_s = \frac{\sum_{i=1}^n \frac{\Delta I_i}{d_i}}{\sqrt{\sum_{i=1}^n \frac{\Delta I_i}{d_i^3}}} \quad (6)$$

$$\Delta I_i = \frac{m_i}{M} \quad (7)$$

Onde:

\bar{d}_s : diâmetro médio superficial das partículas (mm);

m_i : massa de amostra retida na peneira i (g);

M : massa total de amostra (g);

d_i : diâmetro da peneira i (mm);

n : número total de frações.

3.4 EXTRAÇÃO DOS COMPOSTOS ATIVOS DE TOMATE

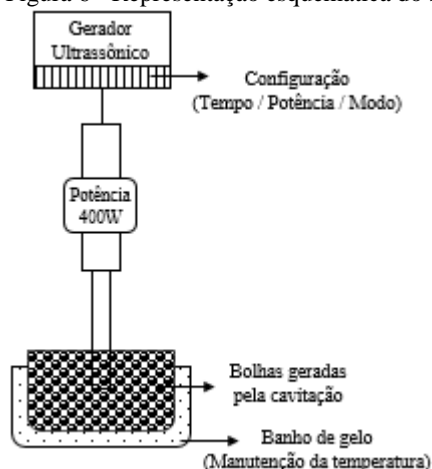
A técnica de extração utilizada no presente trabalho foi a extração por sonda ultrassônica, ou sono-extração. O solvente orgânico utilizado para extração foi o etanol que apresenta índice de polaridade de 5,2 (BYERS, 2007) e constante dielétrica de 24,85 (GU et al. 2004).

O etanol, além de ser um solvente com polaridade média, apresenta caráter anfifílico, ou seja, tem a capacidade de extrair tanto substâncias com caráter apolar quanto polar (OLIVEIRA et al., 2015).

Foram utilizados 5 gramas de tomate cereja em pó e a relação massa de amostra por volume de solvente (etanol) foi nas respectivas concentrações de 1:10, 1:20 e 1:30 (m/v). Após a dissolução e completa mistura do pó, os mesmos foram submetidos ao processo de extração em

um sonicador de ponteira ultrassônica da marca (Eco sonics - Modelo QR500, Brasil) com potência fixada em 400W (RMS) e frequência ultrassônica de 20 kHz com temperatura controlada em 20°C por termômetro de vidro (PROMOLAB®) adaptado a um banho de gelo durante toda operação, conforme mostrado pela Figura 6. As extrações de cada amostra foram realizadas em duplicata e os tempos de extração variaram em 4, 8 e 12 minutos.

Figura 6 - Representação esquemática do sonicador de ponteira.



Fonte: Dados do autor (2016).

3.4.1 Cálculo da intensidade ultrassônica (I)

A partir da Equação 8, pode-se calcular a intensidade ultrassônica.

$$I = \frac{P}{\pi r^2} \quad (8)$$

Onde:

P: Potência ultrassônica absoluta;

r: Raio da ponta da sonda;

Levando em conta que o nível de potência ultrassônica projetado foi fixado em 80% da potência de entrada máxima do equipamento (500W), a potência utilizada foi de 400 W. O diâmetro da

micro ponta ultrassônica de titânio é de 0,4 cm, logo, a intensidade de ondas ultrassônicas calculada foi de 3184 W/cm².

3.4.2 Evaporação do solvente

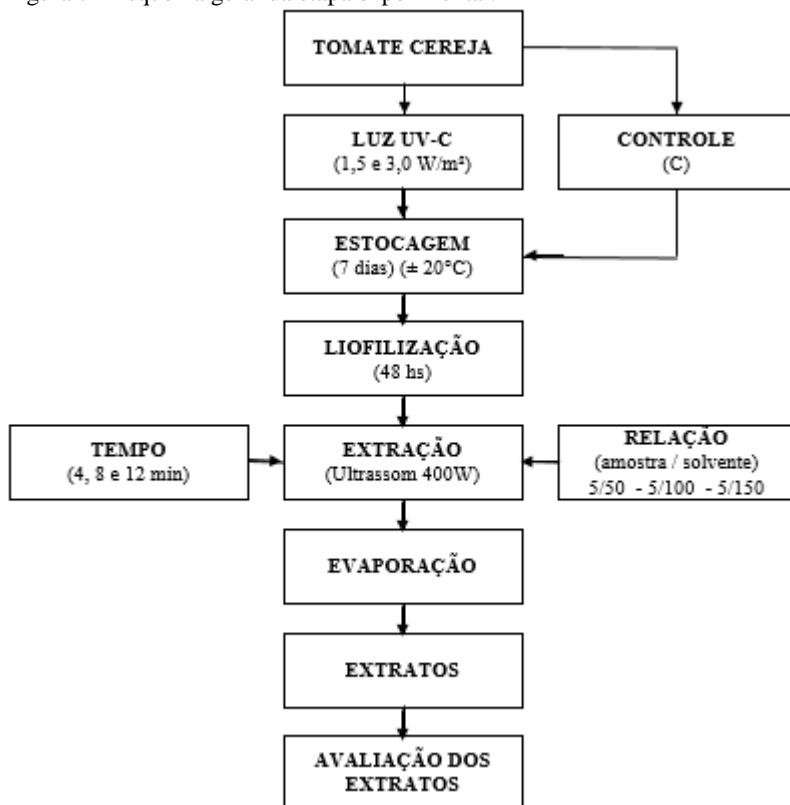
Os extratos obtidos foram filtrados a vácuo e o solvente residual eliminado em um evaporador rotativo (Fisatom Ltda. - Modelo 802, Brasil) com arrefecimento feito por banho ultratermostático (Nova Ética) e controle de vácuo (Nova técnica - Modelo NT 613, Brasil).

A evaporação foi realizada a 60°C, com valor inferior ao ponto de ebulição do solvente utilizado, salvaguardando os extratos de possíveis alterações motivadas por uso de calor excessivo, e o vácuo ajustado em 650 mmHg. Em seguida, os extratos foram pesados e armazenados em frascos âmbar de 30 mL e armazenados em freezer doméstico a -18 °C.

3.5 DESIGN EXPERIMENTAL E CODIFICAÇÃO DAS AMOSTRAS

A Figura 7 mostra o fluxograma que resume toda a etapa experimental desenvolvida nesta pesquisa para caracterização obtenção dos extratos de tomate cereja.

Figura 7 - Esquema geral da etapa experimental.



Fonte: Dados do autor (2016).

Na Tabela 5 estão codificadas todas as amostras analisadas no presente trabalho. Para as amostras submetidas ao tratamento com radiação ultravioleta usou-se a codificação UV1 e UV2, respectivamente com intensidades de 1,5 e 3,0 W/m² de radiação, e amostras controle (C), não submetida a radiação, conforme descrito anteriormente no item 3.2. Para codificação das extrações por ultrassom os tempos de 4, 8 e 12 minutos foram mantidos na codificação geral, e para as três variáveis do solvente de extração etanol, codificou-se com sendo 1, 2 e 3, respectivamente representado as quantidades de 50, 100 e 150 mL, como descrito no item 3.5

Tabela 5 - Codificação geral das amostras.

Tratamento UV	Tempo de extração (mL)	Solvente de extração Etanol (mL)	Codificação Gral
C	4	50	C.4.1
		100	C.4.2
		150	C.4.3
	8	50	C.8.1
		100	C.8.2
		150	C.8.3
	12	50	C.12.1
		100	C.12.2
		150	C.12.3
UV1	4	50	UV1.4.1
		100	UV1.4.2
		150	UV1.4.3
	8	50	UV1.8.1
		100	UV1.8.2
		150	UV1.8.3
	12	50	UV1.12.1
		100	UV1.12.2
		150	UV1.12.3
UV2	4	50	UV2.4.1
		100	UV2.4.2
		150	UV2.4.3
	8	50	UV2.8.1
		100	UV2.8.2
		150	UV2.8.3
	12	50	UV2.12.1
		100	UV2.12.2
		150	UV2.12.3

Fonte: Elaborado pelo autor (2017).

3.6 DETERMINAÇÃO DO RENDIMENTO DA EXTRAÇÃO (%)

O rendimento dos extratos obtidos em cada condição de extração foi calculado através da razão entre a massa de amostra inicial utilizada e a massa de extrato obtida. Realizados em duplicata, os experimentos foram executados nas condições descritas anteriormente no item 3.5 A

temperatura e potência ultrassônica foram mantidas fixas em $20 \pm 0,5$ °C e 400W, respectivamente.

A influência do tempo e da relação sólido/líquido no rendimento foi avaliado a partir de um planejamento experimental com 3 níveis e 2 variáveis sendo nove experimentos para cada tratamento incluindo o controle, totalizando 27 experimentos (Tabela 7).

Tabela 6 - Níveis e variáveis utilizadas no planejamento experimental.

Variáveis	Níveis		
	-1	0	+1 ^a
Tempo (min)	4	8	12 ^b
Amostra (g) : Solvente (v)	5:50	1:100	5:150

^a Valores codificados; ^b Valores reais;

Fonte: Dados do autor (2016).

Tabela 7 - Planejamento experimental fatorial completo 3², com as variáveis tempo (T) e relação sólido/líquido (SL), variando em três níveis.

Experimento	Variáveis codificadas de t ^a	Variáveis codificadas de SL ^b	Variáveis reais de t	Variáveis reais de SL
1	-1	-1	4	5:50
2	-1	0	4	5:100
3	-1	+1	4	5:150
4	0	-1	8	5:50
5	0	0	8	5:100
6	0	+1	8	5:150
7	+1	-1	12	5:50
8	+1	0	12	5:100
9	+1	+1	12	5:150

^at = variável tempo; ^bSL = Razão sólido/líquido;

Fonte: Dados do autor (2016).

As amostras de cada experimento foram pesadas em béquer. O solvente, teve sua quantidade aferida em proveta e na sequência foi misturado a amostra para realização das extrações. Os resultados dos rendimentos foram expressos como média \pm desvio padrão conforme item 4.2.

3.7 CONTEÚDO DE LICOPENO

3.7.1 Extração e quantificação do licopeno por espectrofotometria

A determinação da concentração de licopeno seguiu o procedimento proposto por Fish et al. (2002), com adaptações, e foram realizados no Laboratório de Química de Alimentos do Departamento de Engenharia Alimentar da Universidade do Algarve (UA1g - Portugal).

Dos extratos de tomate cereja foram pesados 0,2 g de amostras em tubos de ensaio cobertos por papel laminado para proteção contra os efeitos deletérios da luz, e todas as amostras foram analisadas em triplicata. Após a pesagem foram adicionados aos tubos de ensaio, 5 mL de BHT (butil-hidroxitolueno) a 0,05% em acetona, 5 mL de álcool etílico P.A. e 10 mL de hexano. Em seguida, os tubos foram submersos em banho de gelo e agitados em agitador (Bath Shaker - OVAN BS127E) a 100 rpm por 15 minutos. Após agitação foi adicionado 3 mL de água destilada em cada tubo e agitou-se por mais 5 minutos.

Após este procedimento, os tubos foram mantidos em repouso por 5 minutos em temperatura ambiente e ao abrigo da luz para permitir a total separação de fases, conforme Figura 8.

Figura 8 - Tubos em fase de repouso para separação de fases.



Fonte: Dados do autor (2016).

Na sequência, foi retirada da fase superior uma alíquota para leitura em espectrofotômetro (HITACHI - U-2000), previamente calibrado com hexano e leu-se a absorbância das amostras com comprimento de onda de 503 nm utilizando-se o hexano como branco.

Para o cálculo da concentração de licopeno foi utilizada a Equação 9, os resultados foram expressos em mg/g.

$$\text{Conteúdo de licopeno} \left(\frac{\text{mg}}{\text{g}_{\text{extrato}}} \right) = \frac{A_{503-31,2}}{\text{g}_{\text{extrato}}} \quad (9)$$

Onde:

A: Absorbâncias;

31,2: coeficiente de extinção do licopeno;

3.7.2 Quantificação do licopeno por cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE)

A quantificação de licopeno deu-se a partir da metodologia implementada por EMBRAPA, 2015. A extração do licopeno seguiu a metodologia de Fish et. al (2002), com adaptações, conforme descrita anteriormente no item 3.8.1.

Após a extração e conseqüente separação das fases, a parte superior (amarela) foi retirada e filtrada com membrana 0,45 em balão de 10 mL. O filtrado evaporado em evaporador rotativo até a separação total do solvente e em seguida foi ressuspensão em 2 mL da fase móvel (Metanol: Acetato de etila: Acetonitrila), nas proporções de 8:1:1 v.v.v.). A solução resultante foi novamente filtrada em membrana de 0,45 µm e armazenada em vial âmbar para análise por CLAE.

Os extratos foram analisados em HPLC-UV-vis (JASCO PU-2080 plus) acoplado a detector UV-vis (JASCO MD-2015), com temperatura interna do sistema em 25°C. A coluna utilizada foi a C18 (Nucleosil) com 250x4,6 mm, e partículas de 5µm.

O comprimento de onda para melhor detecção do licopeno foi de 470 nm, com fluxo variando de 1,2 mL.min⁻¹. O volume de injeção foi de 20 µL, com um tempo de corrida de 17 minutos. A solução estoque foi preparada a partir de um padrão de licopeno ≥ 90% de tomate (Sigma-Aldrich) a 1000 mg.L⁻¹ e diluída em clorofórmio em seis níveis de concentração que variaram de 0,50 mg.L⁻¹ a 75 mg.L⁻¹, utilizando-se como solvente a fase móvel (EMBRAPA, 2015).

3.8 DETERMINAÇÃO DO TEOR DE COMPOSTOS FENÓLICOS TOTAIS

A determinação de compostos fenólicos totais dos extratos de tomate cereja foi realizada nos Laboratórios de Processamento e

Química de Alimentos do Departamento de Engenharia Alimentar da Universidade do Algarve (UALg – Portugal), seguindo a metodologia de Folin-Ciocalteu (SINGLETON; ORTHOFER; LAMUELA-RAVENTÓS 1999; PESCHEL et al., 2006).

Inicialmente foi construída a curva padrão de ácido gálico a partir da mistura de 0,002 g/mL da solução estoque de ácido gálico em água destilada. Em seguida, tendo como base a solução estoque foram obtidas uma série de soluções com concentrações de 0 a 500 mg/L. Em tubos de ensaio de 10 mL foi preparado o meio reacional a partir da transferência de 100 µL de cada uma das diluições padrão, 6 mL de água destilada e 0,5 mL do reativo de Folin-Ciocalteu 2N.

Após homogeneização em vórtex (VWR Standard), aguardou-se 1 minuto para adição de 1,5 mL de carbonato de cálcio (CaCO₃) a 20% (m/v), ao final adicionou-se mais 1,9 mL de água destilada, seguido de agitação e repouso em temperatura ambiente e ao abrigo da luz por 2 horas. As leituras foram realizadas em espectrofotômetro (HITACHI - U 2000, país) a 765 nm, previamente calibrado com água destilada. A curva de calibração do ácido gálico foi representada através do gráfico de absorbância *versus* concentração de ácido gálico (mg/L).

Todos os extratos foram diluídos em álcool etílico absoluto P.A., mesmo solvente utilizado em todas as extrações. A concentração final das soluções foi de 1 mg/mL e para aumentar a solubilização do extrato, um banho indireto de ultrassom (SONOREX SUPER RK 510) foi utilizado por 5 minutos. Seguiu-se o mesmo procedimento reacional realizado para a curva analítica de ácido gálico. Os valores de absorbância encontrados para cada tipo de extrato foram verificados se estavam dentro da faixa de absorbância da curva padrão.

Para o cálculo de TFT foi subtraído do valor da absorbância de cada amostra o valor da absorbância do respectivo branco, sendo o resultado da absorbância substituída na equação do ácido gálico, e assim obtido o equivalente em ácido gálico (EAG). Em seguida, foi calculado o teor de compostos fenólicos totais através da Equação 10. Os ensaios foram realizados em triplicata e os resultados expressos em mg de ácido gálico/g de extrato.

$$\text{TFT (mg EAG/g extrato)} = \frac{\text{EAG} \cdot 1000}{C_{\text{extrato}}} \quad (10)$$

Onde:

EAG: equivalente em ácido gálico (mg/L);

C_{extrato}: concentração do extrato (mg/L).

3.9 ATIVIDADE ANTIOXIDANDE

Duas metodologias bem difundidas na literatura foram usadas para determinação da atividade antioxidante dos extratos de tomate cereja (*L. esculentum*), o método do radical ABTS e o método do radical DPPH. Os resultados de ambas as técnicas foram comparados com os resultados obtidos para o composto sintético butil-hidroxitolueno (BHT), por este apresentar elevada e comprovada atividade antioxidante. As análises foram realizadas nos Laboratórios de Processamento e Química de Alimentos, ambos situados no Instituto Superior de Engenharia - Departamento de Engenharia Alimentar da Universidade do Algarve (UAAlg - Portugal).

3.9.1 Método do radical ABTS

A técnica de capacidade antioxidante através do radical ABTS foi realizada em acordo com as metodologias propostas por Re et al. (1999) e Rufino et al. (2007), onde o Trolox (6-hidroxi-2,5,7,8-tetrametilcromo-2-ácido carboxílico), foram utilizados respectivamente como antioxidante referência.

O radical $ABTS^+$ foi primeiramente preparado a partir da mistura de 5 mL da solução estoque de ABTS 7 mM e 88 μ L da solução de persulfato de potássio ($Na_2O_8S_2$) 140 mM, dissolvidos em água. Em seguida, a solução estoque foi armazenada em temperatura ambiente e ao abrigo da luz durante 16 horas para estabilização. Esta solução foi previamente diluída em 30 mL de etanol absoluto, tendo sua absorbância corrigida para $0,700 \pm 0,05$ no espectro de 734 nm.

Posteriormente foi preparada uma solução estoque do padrão trolox a 2 mM, em etanol absoluto, e utilizadas em diluições variando de 0,1 a 10 mL, nas concentrações variando de 0 a 2000 μ M. Da solução diluída 30 μ L de cada diluição foi transferido para tubos de ensaio e adicionados a cada tubo mais 3 mL do radical $ABTS^+$. Todos os ensaios foram realizados em triplicata.

Os tubos contendo meio reacional foram incubados ao abrigo da luz durante 6 minutos e em seguida foi realizada a leitura de cada um em espectrofotômetro a 734 nm. A partir das absorbâncias obtidas, plotou-se a concentração do padrão de trolox (μ M) no eixo X e as respectivas absorbâncias no eixo Y, sendo assim obtida a equação da reta. A partir da equação da reta ($y = -ax+b$) calculou-se a absorbância

referente a 1000 μM do padrão trolox, onde se substituiu X por 1000 μM .

Para a solução estoque dos extratos foram utilizados 1 mg/mL de amostra, sendo estes diluídos em concentrações de 100, 250, 500 e 1000 $\mu\text{g/mL}$. Os meios reacionais foram preparados de maneira semelhante à realizada com o padrão trolox, misturando-se alíquotas de 30 μL de cada diluição do extrato e 3 mL de radical ABTS⁺ e posteriormente incubando-os no escuro ao abrigo da luz. As leituras em espectrofotômetro realizadas após 6 minutos de reação.

A partir das absorbâncias lidas para as diferentes diluições dos extratos foi obtida a equação da reta a partir da plotagem da absorbância no eixo Y e da diluição (mg/L) no eixo X. Para calcular a atividade antioxidante, substituiu-se na equação da reta a absorbância equivalente a 1000 μM do padrão trolox. O valor obtido para o termo x corresponde à diluição da amostra (mg/L) equivalente a 1000 μM de trolox conforme a Equação 11.

$$y = -ax + b \quad (11)$$

Logo, partindo do resultado (x) encontrado na Equação 11, dividiu-se por 1000 para se ter o valor em gramas (g). O resultado final foi calculado pela divisão de 1000 (μM) pelo valor de X(g) e multiplicado por 1(g) para encontrar o valor final (Z) que é expresso em μM trolox / g de fruta (porção comestível).

3.9.2 Método do radical DPPH

A atividade antioxidante foi determinada pelo método do radical DPPH de acordo com a metodologia proposta por Mensor et al. (2001). Para a solução estoque dos extratos (1 mg/mL) foram adaptadas as concentrações em 0,10, 25, 50, 125, 250, 500, 750 e 1000 mg/L em uma solução de DPPH (0,3 mM). Esta adaptação foi necessária para satisfazer aos requisitos estabelecidos na metodologia visando o ajuste dos valores da atividade antioxidante na curva.

As amostras foram homogeneizadas em vórtex (VWR Standard), tampadas e incubadas em temperatura ambiente e ao abrigo da luz por 30 minutos e em seguida lidas em espectrofotômetro a 517 nm. O percentual de inibição da amostra testada sobre o radical DPPH foi calculado de acordo com a Equação 12.

$$AA (\%) = 100 - \left[\frac{\text{Abs}_{\text{amostra}} - \text{Abs}_{\text{branco}} * 100}{\text{Abs}_{\text{controle}}} \right] \quad (12)$$

Após a obtenção dos valores de AA (%) calcula-se o EC₅₀ (Effective concentration) por análise de regressão linear. O EC₅₀ é a concentração mínima eficaz para capturar 50 % do radical DPPH. Para calcular o EC₅₀ de forma confiável é necessário (ALEXANDER et al., 1999): a) plotar o gráfico concentração de extrato *versus* absorbância apenas se o valor de 50 % da AA estiver próximo ao centro da curva, num intervalo de aproximadamente 20 a 80 %; b) o coeficiente de regressão (R²) deve ser o mais próximo de 1 possível. A partir da equação da reta (Y = aX + b), substitui-se o Y por 50 e calcula-se o EC₅₀ (X), conforme a Equação 13.

$$EC_{50} = \frac{(50-b)}{a} \quad (13)$$

Onde: *a* e *b* são valores calculados a partir da equação da curva de DPPH.

3.10 ATIVIDADE ANTIMICROBIANA

A atividade antimicrobiana dos extratos de tomate cereja (*L. esculentum*) foi avaliada pelos métodos, quantitativo de difusão em ágar e qualitativo de concentração mínima inibitória para 5 bactérias e uma levedura, conforme Tabela 8. As análises foram realizadas no Laboratório de Microbiologia do Departamento de Engenharia Alimentar da Universidade do Algarve, Portugal.

Tabela 8 - Tipos de micro-organismos utilizados.

Micro-organismo	Código	Classificação
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	NCTC 12903	Bactéria gram (-)
<i>Escherichia coli</i>	ATCC 13048	Bactéria gram (-)
<i>Listeria innocua</i>	ATCC 33090	Bactéria gram (+)
<i>Bacillus cereus</i>	ATCC 14579	Bactéria gram (+)
<i>Staphylococcus aureus</i>	ATCC 12981	Bactéria gram (+)
<i>Saccharomyces cerevisiae</i>	NCPF 3178	Levedura

Fonte: Dados da pesquisa (2017).

3.10.1 Método de difusão em ágar

O teste de difusão em ágar ou difusão em placas através de discos foi realizado a partir de uma suspensão bacteriana feita para cada um dos 6 micro-organismos, conforme metodologia descrita por Smania et. al. (1999). Cada suspensão continha aproximadamente 10^8 UFC/mL de bactérias que foi confirmado através de comparação visual com o padrão de McFarland 1.

As suspensões, com auxílio de swab estéril, foram semeadas em placas de petri contendo meio ágar de Müller-Hinton. Nas placas foram distribuídos 6 discos estéreis de 6 mm, onde em cada disco foi adicionado em triplicata, 10 µL de solução extrato em concentrações de 200 mg/mL diluídos em DMSO (Dimetilsufóxido) a 60%. A solução de DMSO foi testada para verificação de sua incapacidade de inibição aos micro-organismos.

Em seguida, as placas foram incubadas em estufa bacteriológica, em condições aeróbicas, respeitando o tempo e temperatura de cada micro-organismo, conforme as informações expressas na Tabela 9.

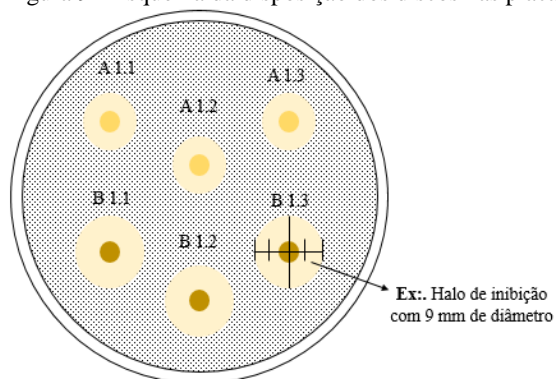
Tabela 9 - Características de incubação dos micro-organismos.

Micro-organismo	Tempo (h)	Temperatura (°C)
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	24	37°
<i>Escherichia coli</i>	24	37°
<i>Listeria innocua</i>	24	30°
<i>Bacillus cereus</i>	24	37°
<i>Staphylococcus aureus</i>	24	37°
<i>Saccharomyces cerevisiae</i>	48	25°

Fonte: Dados da pesquisa (2017).

A avaliação da inibição foi realizada de maneira comparativa frente a um padrão biológico de referência, o controle positivo, e o halo ou zona de inibição de crescimento foi medido com auxílio de um calliper digital (POWERFIX Profi) partindo-se da circunferência do disco até a margem onde houve crescimento do micro-organismo. Segue desenho esquemático das placas após incubação (Figura 9).

Figura 9 - Esquema da disposição dos discos nas placas e halos de inibição.



Fonte: Elaborado pelo autor (2017).

Os micro-organismos apresentaram diferentes antibióticos como padrões positivos de referência sendo: o Cloranfenicol utilizado para *Bacillus cereus* e *Staphylococcus aureus*; Ciprofloxican para *Pseudomonas aeruginosa*; Amplimicina para *Escherichia coli*; Trimethoprim para *Listeria innocua*; Nystatin para *Saccharomyces cerevisiae*. De acordo com Bauer et al. (1966), as amostras com halos de inibição com tamanho acima de 9 mm são tratadas como potenciais inibidores.

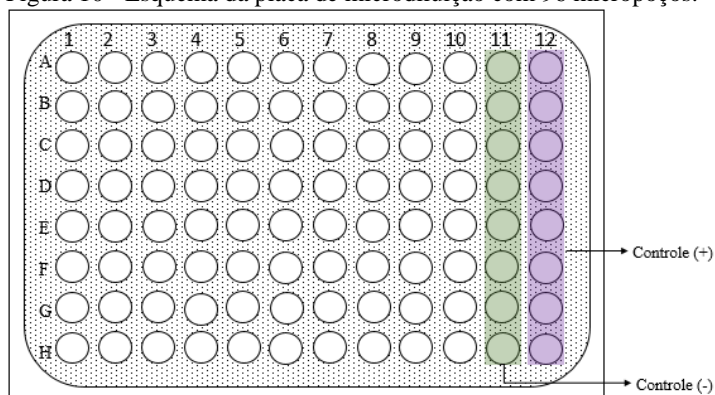
3.10.2 Determinação da concentração mínima inibitória (CMI)

A determinação qualitativa da concentração mínima inibitória (CMI) foi realizada pelo método de microdiluição em caldo, conforme a metodologia descrita por Ávila et al. (2008) para todos os micro-organismos que apresentam resultado positivo para o método de difusão em ágar. Os extratos testados foram dissolvidos em DMSO previamente esterilizado, obtendo uma concentração inicial de 20 mg/mL.

Em uma placa de microdiluição de 96 poços foram preparadas diluições seriadas obtendo-se concentrações finais variando entre 2000 e 3,90 µg/mL. Em cada micropoço foram distribuídos 10 µL de cada diluição, 85 µL de caldo de Müller-Hinton e 5 µL de inóculo bacteriano contendo, aproximadamente, 10^8 UFC/mL. Como controles de esterilidade (controle -) e de crescimento (controle +), foram usados mistura do inóculo bacteriano adicionado em meio de cultura e meio de cultura em DMSO, respectivamente. A figura 10 apresenta um exemplo

esquemático da placa de microdiluição e a disposição dos 96 micropoços.

Figura 10 - Esquema da placa de microdiluição com 96 micropoços.



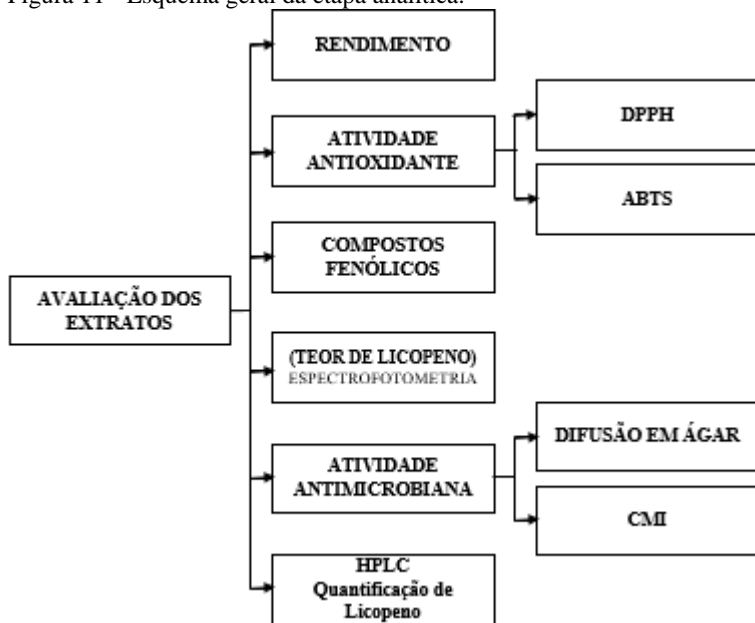
Fonte: Elaborado pelo autor (2017).

Os experimentos foram realizados em duplicata e as placas foram incubadas conforme método já citado no item 3.11.1. A leitura foi realizada através da adição de 20 μL de uma solução alcóolica (70 %) reveladora de crescimento bacteriano INT (cloreto de 2-(4-iodofenil)-3-(4-nitrofenil)- 5-feniltetrazolium), seguido de incubação por 30 min a 37 $^{\circ}\text{C}$. A interpretação das placas se deu de acordo com a coloração, onde púrpura indicou crescimento bacteriano e amarelo indicou ausência de crescimento. A CMI foi considerada a menor concentração do extrato que inibiu o crescimento bacteriano, sendo os resultados expressos em $\mu\text{g/mL}$.

3.11 DESIGN DA ETAPA ANALÍTICA

A Figura 11 mostra o fluxograma que resume a etapa analítica, que foi desenvolvida nesta pesquisa para caracterização dos extratos de tomate cereja obtidos.

Figura 11 - Esquema geral da etapa analítica.



Fonte: Dados do autor (2016).

3.12 ANÁLISE ESTATÍSTICA

Análise estatística dos dados foram realizados através do teste de Tukey com diferenças significativas ou não ao nível de 95% ($p < 0,05$) de confiança.

A análise unidirecional de variância (ANOVA) foi feita com auxílio do software computacional Statistica 7.0 (Statsoft Inc., USA), para análises de rendimento dos extratos, determinações antioxidantes, concentração de compostos fenólicos, análises antimicrobianas e determinação e quantificação do teor de licopeno.

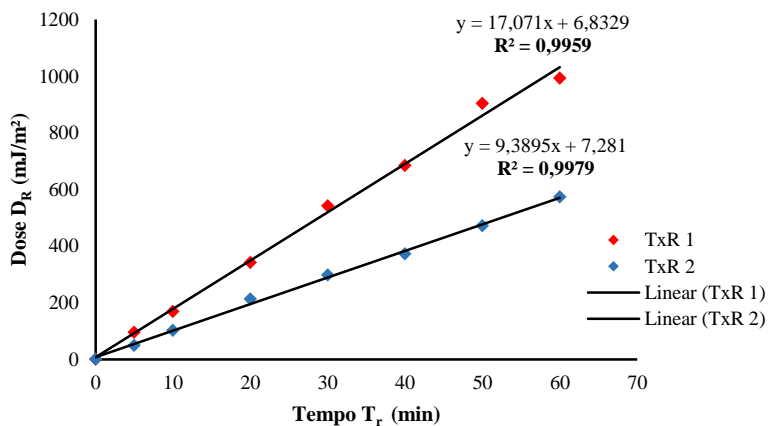
4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

4.1 DETERMINAÇÃO DAS DOSES DE RADIAÇÃO EM RELAÇÃO AO TEMPO DE EXPOSIÇÃO DOS TOMATES

Nesta etapa, empregou-se duas condições distintas baseadas no número de lâmpadas. A primeira, considerando a possibilidade máxima de trabalho do equipamento com 10 lâmpadas ligadas em paralelo, e a segunda, com 5 lâmpadas.

Os dados obtidos estão apresentados na Figura 12, seguido dos dados calculados para intensidade de radiação (I), apresentados na Tabela 10.

Figura 12 - Curvas experimentais de variação da dose de radiação (D_R) em função do tempo (t) de exposição realizados a 20°C, com seus respectivos coeficientes de determinação (R^2).



TxR 1 e TxR 2: Taxas de radiação (dose) em mJ/cm², para 10 e 5 lâmpadas respectivamente; Fonte: Elaborado pelo autor (2016).

Os coeficientes de determinação (R^2) obtidos para os tratamentos UV1 (1,5 W/m²) e UV2 (3,0 W/m²) foram de 0,9979 e 0,9959 respectivamente. O bom ajuste obtido demonstra a dependência linear da dose de radiação com o tempo. É importante observar que a intensidade máxima atingida pelo equipamento foi de 3 W/m², na

condição de 10 LMP, com doses variando de 95 a 992 mJ/cm² para tempos de 5 a 60 minutos respectivamente.

Tabela 10 - Doses e intensidades de radiação obtidos no intervalo de 60 minutos utilizando 5 e 10 lâmpadas.

t (min)	Dose (mJ/cm ²)		Intensidade (W/m ²)	
	5 Lmp	10 Lmp	5 Lmp	10 Lmp
0	0	0	0,00	0,00
5	49	95	1,63	3,17
10	102	169	1,70	2,82
20	213	341	1,78	2,84
30	297	541	1,65	3,01
40	372	684	1,55	2,85
50	471	903	1,57	3,01
60	573	992	1,59	2,76

Lmp: Lâmpadas; t (min): Tempo de radiação em minutos.

Fonte: Dados do autor (2016).

Estes tratamentos são considerados brandos por Cote et al. (2013) e seus colaboradores, que analisaram os efeitos da luz UV-C em intensidades de 3 W/m² e 33 W/m² em tomates pós-colheita.

Entretanto, apesar de ser considerada uma baixa intensidade de radiação, essa faixa é capaz de promover mudanças no que diz respeito aos compostos bioativos. Segundo Pataro et al. (2015), doses baixas de 2000 J/m² de radiação aplicados em tomates verdes demonstraram alterações significativas em relação a acumulação de compostos alimentares benéficos à saúde, observados durante as fases do ciclo de maturação do fruto.

4.2 TEOR DE UMIDADE

Os valores de umidade determinados para o pó tomate cereja pós liofilização, estão expressos na Tabela 11, como média ± desvio padrão.

Tabela 11 - Valores de umidade das amostras após etapa de liofilização.

Amostra	Teor de Umidade (em base seca) (%)
C	2,99±0,09
UV1	2,57±0,56
UV2	2,98±0,08

Fonte: Dados do autor (2016).

A umidade do tomate in natura usado no presente estudo era de 94%, e das amostras de tomate em pó liofilizado foi em média 2,85%. A redução do teor de água foi de aproximadamente 91% em relação a matéria prima in natura.

4.3 DETERMINAÇÃO DO DIÂMETRO DE PARTÍCULAS

A determinação do diâmetro médio de partícula do tomate cereja liofilizado e triturado foi realizado com auxílio de peneiras com tamanho compreendido entre 30 a 140 *mesh*, e calculado conforme método apresentado no item 3.4.1.

O diâmetro médio de partícula encontrado para o pó dos tomates liofilizados foi de $0,23 \pm 0,8$ mm.

É de grande importância a compreensão do tamanho de partículas das amostras para o entendimento do processo de cavitação provocado pela extração assistida por ultrassom, tendo em vista que, sendo uma onda sonora, o ultrassom é transmitido através de substâncias gasosas, líquidas ou sólidas, que possuam propriedades elásticas. Através do movimento das moléculas, provocados pelas oscilações sonoras, há a geração de regiões alternadas de compressão e rarefação. No caso, do meio onde se encontram líquidos e sólidos, a oscilação das partículas suspensas ocorre de maneira versátil, onde para o líquido ocorrerão movimentos longitudinais e para o sólido movimentos perpendiculares em direção a onda sonora (LUZ, 1998). Assim, a cavitação é um fator importante para maximizar o rendimento da extração para ultrassom assistida.

O tamanho das partículas é fator crucial no processo de cavitação, pois o início deste processo se dá através dos sítios de nucleação existente nas partículas suspensas, onde as pressões tensionais são reduzidas (MASON; LORIMER, 1988). Quanto maior as partículas, maiores serão as fendas de nucleação, logo a inevitável ocorrência de nucleação de vapor ou gás poderá ser maior e diretamente responsável pela redução do limite de cavitação, alterando o resultado final da extração.

4.4 DETERMINAÇÃO DO RENDIMENTO GLOBAL DE EXTRATO

Os rendimentos dos extratos de tomate cereja (*Lycopersicon esculentum* Mill) provenientes da matéria-prima previamente submetida

a diferentes tratamentos com radiação UV-C, estão apresentados na Tabela 12.

Tabela 12 - Valores de rendimento global dos extratos de tomate cereja extraídas por ultrassom em diferentes condições de processo.

Tratamento	Condição de Extração		Rendimento (%)
	Solvente (mL)	Tempo (min)	
C	50	4	19,4±1,1 ^{dA}
	100	4	28,5±2,0 ^{bcA}
	150	4	32,4±0,9 ^{abA}
	50	8	26,0±2,8 ^{cdA}
	100	8	22,4 ±2,0 ^{bcA}
	150	8	25,7 ±3,4 ^{abA}
	50	12	23,2 ±2,6 ^{cdA}
	100	12	29,7 ±2,5 ^{abA}
	150	12	31,7 ±0,7 ^{aA}
UV1	50	4	17,9 ±0,0 ^{dA}
	100	4	25,8 ±1,9 ^{bcA}
	150	4	29,6 ±2,2 ^{abA}
	50	8	22,0 ±2,2 ^{cdA}
	100	8	28,7 ±0,1 ^{bcA}
	150	8	28,9 ±0,8 ^{abA}
	50	12	21,5 ±1,8 ^{cdA}
	100	12	27,9 ±3,9 ^{abA}
	150	12	30,0 ±2,4 ^{aA}
UV2	50	4	16,0 ±0,4 ^{dA}
	100	4	23,5 ±2,2 ^{bcA}
	150	4	28,3 ±0,3 ^{abA}
	50	8	17,3 ±0,5 ^{cdA}
	100	8	25,5 ±0,5 ^{bcA}
	150	8	31,1 ±0,3 ^{abA}
	50	12	21,4 ±2,8 ^{cdA}
	100	12	24,7 ±0,9 ^{abA}
	150	12	31,4 ±0,3 ^{aA}

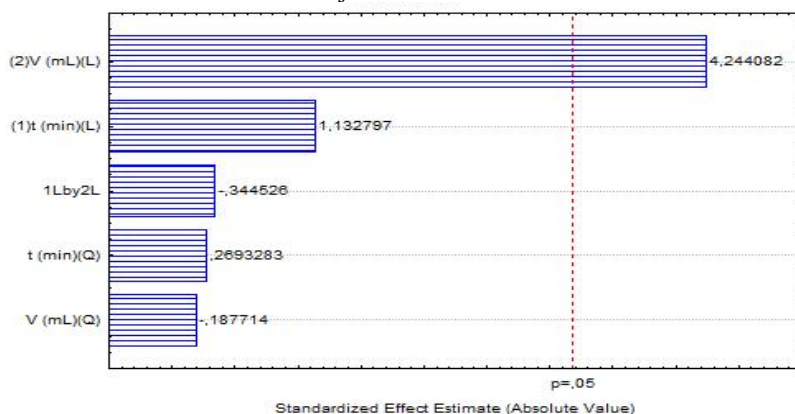
⁽¹⁾ Letras minúsculas iguais na mesma coluna indicam que não há diferença significativa ($p < 0,05$) relativo as condições de extração; ⁽²⁾ Letras maiúsculas na mesma coluna indicam que não há diferença significativa ($p < 0,05$) relacionado ao tratamento das amostras, pelo teste de Tukey. Fonte: Dados do autor (2016).

Os resultados de rendimento apresentaram comportamento similar, independente da amostra, não foi observado diferença significativa entre o tipo de tratamento. Entretanto, as condições de extração mostraram influência significativa ($p < 0,05$) no rendimento variando entre $16,0 \pm 0,4 \%$ e $32,4 \pm 0,9 \%$.

Os maiores rendimentos, observando apenas a EAU, foram obtidos usando a concentração máxima de 1:30 (m/v) ou 150 mL de solvente na extração, apresentando diferença estatística, de acordo com o teste de Tukey ao nível de 5 % de significância em relação aos rendimentos obtidos com as concentrações mínimas de solvente 1:10 (50 mL)

Os efeitos lineares (L) e quadráticos (Q) encontrados para as variáveis no rendimento dos extratos podem ser observados no Gráfico de Pareto apresentado na Figura 13 que ilustra a influência das variáveis independentes sobre as variáveis respostas, considerando-se significativas aquelas cujas colunas horizontais ultrapassam as linhas tracejadas, representativas para o intervalo de confiança de 95 % ($p < 0,05$).

Figura 13 - Gráfico de Pareto com os efeitos lineares (L) e quadráticos (Q) do tempo e volume de solvente para a resposta do rendimento global obtido na EAU dos extratos de tomate cereja.



Fonte: Elaborado pelo autor (2017).

Observando o gráfico acima, nota-se que das duas condições de extração apenas o volume de solvente foi significativamente influente em relação ao rendimento. A não influência do fator tempo (t), e da interação entre as duas condições é elemento imprescindível para busca

da otimização das condições de processo com intuito de obter melhores resultados em detrimento da redução do uso de solventes, além da definição dos melhores tempos de extração.

Através do experimento fatorial 3², para compreensão individual dos resultados, foi possível interpretar o efeito da utilização de diferentes tempos e volumes de solvente, e da consequente interação entre eles em todo processo (Tabela 13).

Tabela 13 - Estimativa do coeficiente de regressão e teste T sobre a resposta rendimento dos extratos de tomate cereja.

	Coefficiente de Regressão	Erro Padrão	t calculado	P valor
Média	25,50000	2,612286	9,761567	0,002284
t (min) (L)	2,09246	1,847165	1,132797	0,339649
t (min) (Q)	0,82500	3,063176	0,269328	0,805139
V (mL) (L)	7,83952	1,847165	4,244082	0,023960
V (mL) (Q)	-0,57500	3,063176	-0,187714	0,863080
t (min) (L) x V (mL) (L)	-0,90000	2,612286	-0,344526	0,753188

Fonte: Dados do autor (2017).

Pela Tabela 13 e o Gráfico de Pareto (Figura 13), os coeficientes de regressão para o rendimento mostram que apenas o efeito linear volume (em negrito) foi estatisticamente significativo ($p \leq 0,05$), mostrando a real influência de cada variável nos diferentes ensaios. Com este resultado e baseado no R², 86,7% dos dados são explicados pelas regressões do modelo.

Tabela 14 - Análise de variância (ANOVA) do modelo completo da tabela de regressão para o rendimento dos extratos de tomate cereja.

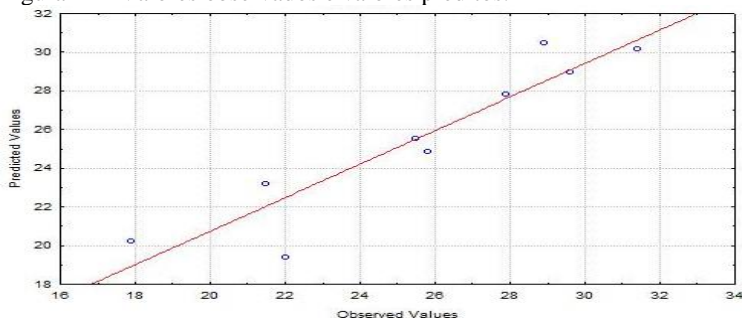
Fonte de Variação	SQ	GL	MQ	F calculado
(1) t (min) (L)	8,7568	1	8,7568	1,28323
t (min) (Q)	0,495	1	0,495	0,70254
(2) V (mL) (L)	122,9161	1	122,9161	18,01223
V (mL) (Q)	0,2405	1	0,2405	0,03524
(1)*(2)	0,81	1	0,81	0,1187
Erro	20,4721	3	6,824	
Total	154,9289	8		

Nível de significância, α : 0,05 %; R²: 86,7.

Fonte: Dados do autor (2017).

Em conformidade com os dados da Tabela 14, o valor de $F_{\text{calculado}}$ foi igual a 18,01. Este valor é menos de uma vez maior que o F_{tabelado} de 10,1, situação que vai em oposição a proposição de Box e Draper (1987), onde afirmam que, para uma regressão não ser estatisticamente significativa, mas que apresentar utilidade para fins preditivos o valor de $F_{\text{calculado}}$ teria de ser no mínimo dez vezes maior que o valor do F_{tabelado} . Com isso, é possível afirmar que o modelo representado pela Tabela 14 é pouco preditivo. Apesar do valor de R^2 ter sido de 86,7% o modelo não apresenta condições suficientes para prever boas respostas, conforme apresentado no gráfico da Figura 14.

Figura 14 - Valores observados e valores preditos.



Fonte: Elaborado pelo autor (2017).

A partir da análise da Figura 14, observa-se que apesar de alguns valores terem se adaptado aos valores preditos pelo modelo (linha vermelha), muitos outros comportaram de maneira distante ao sugerido, isso mostra que a otimização do processo de extração se faz necessária afim de tornar significativa todas as variáveis do processo.

De acordo com a análise estatística realizada os valores críticos sugeridos para que ambas as variáveis apresentassem significância em relação a variável dependente rendimento, seriam para o tempo $t = 14,8$ min. e volume de solvente $V = 74,73$ mL.

4.5 QUANTIFICAÇÃO DO CONTEÚDO DE LICOPENO

4.5.1 Teor de licopeno por espectrofotometria

Os dados do teor de licopeno dos extratos de tomate cereja não irradiados e irradiados a diferentes doses e intensidades, estão apresentados na Tabela 15. Os dados foram avaliados estatisticamente de acordo com o teste de Tukey ao nível de 5% de significância.

Tabela 15 - Teor de licopeno para os extratos de tomate cereja (*L. esculentum*).

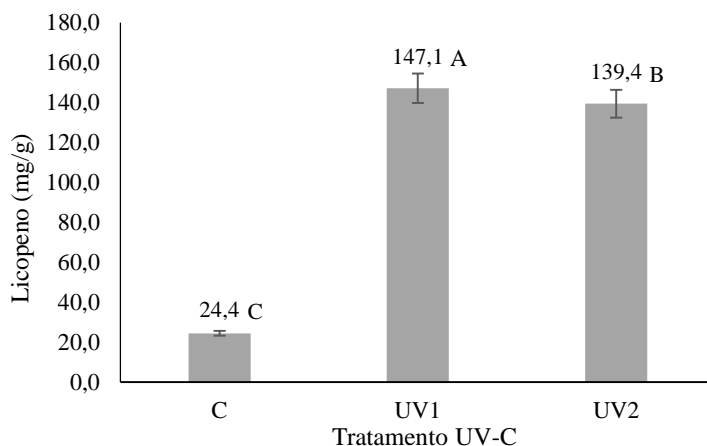
Tratamento	Condição		Licopeno (mg/g)
	Tempo (min)	Solvente (Etanol) mL	
C	4	50	24,4±0,8 ^{cC}
	4	100	32,4±0,8 ^{aC}
	4	150	31,9±1,0 ^{aC}
	8	50	27,7±1,1 ^{bC}
	8	100	25,2±0,6 ^{cC}
	8	150	17,4±0,6 ^{eC}
	12	50	21,4±0,9 ^{dC}
	12	100	14,6±0,9 ^{iC}
	12	150	19,9±0,7 ^{dC}
UV1	4	50	147,5±0,3 ^{dA}
	4	100	132,5±0,7 ^{fA}
	4	150	146,2±0,6 ^{dA}
	8	50	143,4±0,6 ^{eA}
	8	100	168,2±0,7 ^{aA}
	8	150	147,1±0,8 ^{dA}
	12	50	146,0±0,9 ^{cA}
	12	100	162,7±0,4 ^{bA}
	12	150	155,4±0,6 ^{dA}
UV2	4	50	139,4±0,9 ^{bB}
	4	100	135,4±0,4 ^{cB}
	4	150	144,3±0,6 ^{aB}
	8	50	130,5±0,8 ^{dB}
	8	100	139,9±0,6 ^{bB}
	8	150	143,6±0,2 ^{aB}
	12	50	139,6±0,1 ^{bB}
	12	100	138,1±0,6 ^{bB}
	12	150	139,1±0,4 ^{bB}

*Letras minúsculas iguais na mesma coluna indicam que não há diferença significativa ($p < 0,05$) entre as amostras, não separadas pela linha contínua, para as condições tempo (min) e solvente (mL); Letras maiúsculas iguais na coluna indicam que não há diferença significativa ($p < 0,05$) entre as amostras em relação ao tipo de tratamento (C, UV1 e UV2); Fonte: Dados do autor (2017).

O teor de licopeno nos frutos de tomate é de grande importância devido sua atividade antioxidante, além de ser um dos critérios que define o estágio maduro dos frutos. Dentre os carotenoides, o licopeno é o principal antioxidante dos frutos de tomate maduro, representando 80% do teor total de carotenoides (TOMMONARO et al., 2008).

No presente trabalho o teor de licopeno variou de $14,6 \pm 0,9$ a $32,4 \pm 0,8$ mg/g para a amostra controle, de $132,5 \pm 0,7$ a $168,2 \pm 0,7$ mg/g para amostra UV1 e de $130,5 \pm 0,8$ a $144,3 \pm 0,6$ mg/g para amostra UV2 (Tabela 15). A maior variação é observada para os frutos irradiados UV1 e UV2 em relação ao grupo controle. Apresentando diferença significativa entre si, todos os extratos com tratamentos UV-C obtiveram aumentos significativos em relação aos extratos controle, independente das condições de extração, conforme expresso na Figura 15.

Figura 15 - Média do conteúdo de licopeno das amostras controle (C), e das amostras irradiadas UV1 e UV2.



Fonte: Elaborado pelo autor (2017).

Os extratos de tomate irradiados apresentaram conteúdo médio de licopeno 5,8 vezes maior que os extratos de tomate controle. Esse resultado corrobora com os resultados obtidos por Pataro et al. (2015), que obtiveram aumento no conteúdo de licopeno 5,23 vezes maior em relação aos tomates não irradiados utilizando tempo de radiação de 60 minutos, similar ao do presente trabalho, e dose de 2000 mJ/cm^2 , dose

ainda considerada baixa, bem como as doses de 573 e 992 mJ/cm², utilizadas neste estudo.

Segundo McCollum (1954), a exposição de frutos ainda imaturos a luz UV pode estimular de maneira significativa o acúmulo de licopeno durante a fase de amadurecimento. Em complemento ao que foi relatado, neste trabalho foi possível observar este acúmulo mesmo em tomates irradiados maduros e analisados após 7 dias de estocagem.

No geral, o aumento do conteúdo de licopeno em frutos de tomate em função do tratamento com luz UV-C é relatado positivamente. Bravo et al. (2012), observou discreto aumento, entre 1,2 e 1,8 vezes, no teor de licopeno em tomates armazenados à temperatura ambiente por 8 dias com doses variando de 0,1 a 1,2 J/cm². Da mesma maneira, Liu et al. (2009) observou aumento no conteúdo de licopeno, porém a partir de tomates verdes irradiados com dose de 1,37 J/m², em um ciclo de armazenamento que durou 21 dias, este aumento só foi significativo a partir do 15^o dia, se comparado aos tomates não tratados. Embora, no presente trabalho as condições de processo e origem da matéria-prima sejam distintas dos utilizados na literatura, é possível observar a mesma tendência nos resultados.

4.5.1.1 Conteúdo de licopeno em função da EAU

Uma análise estatística separada foi realizada para avaliar a influência da extração por ultrassom no conteúdo de licopeno dos extratos de tomate cereja irradiados. Os resultados não apresentaram um comportamento claro da influência das condições deste processo no conteúdo de licopeno dos extratos, porém foi possível observar que os maiores teores de licopeno obtidos para cada conjunto de ensaios (ex: C, UV1 e UV2) não foram obtidos para os maiores tempos de extração (Tabela 15).

As amostras controle (C) diferiram significativamente entre si nas condições de extração estudada. O maior teor foi de 32,4 e 31,9 mg/g na condição de 4 minutos para 100 e 150 mL de solvente, respectivamente. Por outro lado, para o grupo UV1, o maior teor de licopeno observado foi de 168,2 mg/g para a condição de 8 minutos e 100 mL de solvente. Já para o grupo UV2, foram obtidos teores de 144,3 e 146,3 mg/g, respectivamente, para os tratamentos realizados nas condições de 4 e 8 minutos com 150 mL de solvente para ambos. Diante desses resultados, é possível observar também, que o volume de 50 mL

de solvente não foi a melhor opção em relação a obtenção de licopeno e rendimento de extração.

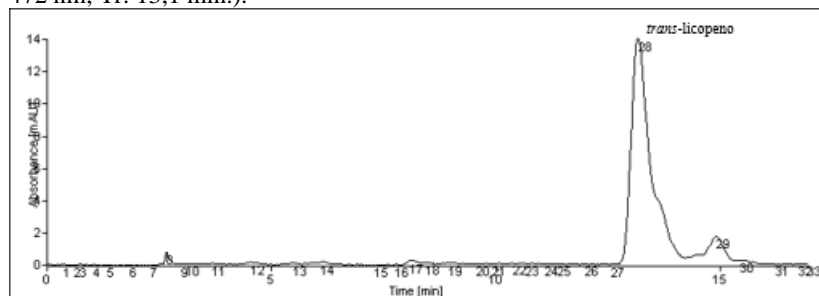
4.5.2 Quantificação de licopeno via CLAE

O método analítico baseado em HPLC-DAD foi utilizado para quantificar o teor de licopeno dos extratos obtidos, com o objetivo de quantificar de forma mais precisa o conteúdo de licopeno das amostras com e sem radiação dos tomates cereja. O tempo de retenção (T_r), e o comprimento de onda dos espectros UV dos picos do carotenoide licopeno foram utilizados para quantificá-los e compará-los com dados disponíveis na literatura.

As Figuras 16 e 17 ilustram os cromatogramas com os picos do padrão de licopeno para as diluições de 0,5 mg/L e 75 mg/L, respectivamente, para as diluições inicial e final.

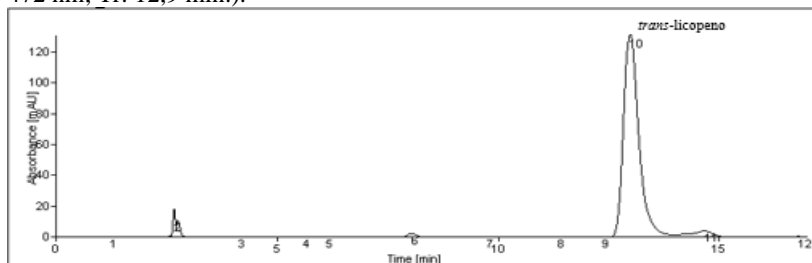
O licopeno das amostras foi identificado com base na comparação dos tempos de retenção e espectros UV/visível anteriormente identificados no padrão. A curva padrão do carotenoide utilizado para o cálculo do teor de licopeno encontra-se no Apêndice C, bem como todos os cromatogramas referentes a diluição e amostras.

Figura 16 - Cromatograma do padrão de licopeno (pureza $\geq 90\%$) para diluição inicial de 0,5 mg/L, com identificação do carotenoide *trans*-licopeno (leitura em 472 nm; T_r : 13,1 min.).



Fonte: Dados do autor (2017).

Figura 17 - Cromatograma do padrão de licopeno (pureza $\geq 90\%$) para diluição final de 75 mg/L, com identificação do carotenoide *trans*-licopeno (leitura em: 472 nm; Tr: 12,9 min.).



Fonte: Dados do autor (2017).

A Tabela 16 apresenta os dados de HPLC-DAD para o licopeno presente nos extratos obtidos nas condições de 4, 8 e 12 minutos de extração, com 100 mL do solvente etanol para ambos os tratamentos UV-C e controle.

Tabela 16 - Quantificação de licopeno nos extratos de tomate cereja (*L. esculentum* Mill) com os tempos de retenção (T_r) em minutos e a área relativa (AR (%)) detectados por cromatografia líquida de alta eficiência (HPLC - DAD).

Amostra ¹	AR(%)	T_r (min)	UV Abs (nm)	Licopeno (mg/g)
C.4.2	17,6	12,7	472	$5,49 \pm 1,82$
C.8.2	13,2	12,4	472	$4,76 \pm 1,25$
C.12.2	10,8	12,7	472	$6,08 \pm 2,02$
UV1.4.2	7,4	12,6	472	$6,09 \pm 0,04$
UV1.8.2	13,7	12,7	472	$2,47 \pm 0,21$
UV1.12.2	13,5	12,7	472	$0,13 \pm 1,04$
UV2.4.2	13	12,7	472	$6,07 \pm 0,2$
UV2.8.2	11,9	12,7	472	$10,8 \pm 0,63$
UV2.12.2	9,1	12,8	472	$0,17 \pm 1,01$

¹Amostra: Codificação conforme Tabela 5;

Fonte: Dados do autor (2017).

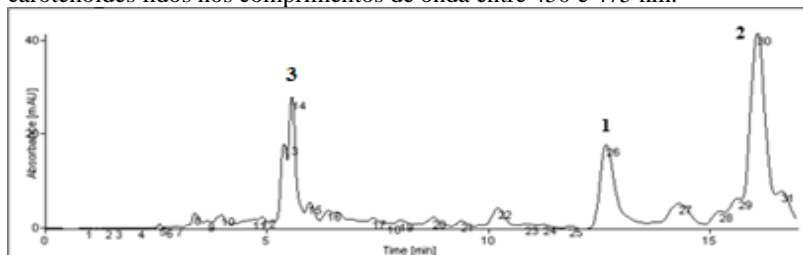
O extrato UV2 8.2 apresentou $10,8 \pm 0,63$ mg/g de licopeno em sua composição, sendo este, o extrato com maior quantidade de licopeno (Tabela 16 e Figura 18). Este valor é superior a valores encontrados para extratos derivados do tomate, ou do próprio tomate, quantificados por HPLC por diversas metodologias. George et al. (2004) obtiveram 1,07

mg/g de licopeno a partir de cascas de tomate, usando hexano/metanol/acetona (2:1:1) e 2,5% de BHT. Por diferentes métodos, Roldán-Gutiérrez e Luque de Castro (2003), observaram um teor de licopeno em pó de tomate entre 1,12 e 1,26 mg/g. Já Eh e Teoh (2012), obtiveram $5,11 \pm 0,27$ mg/g de licopeno em tomate liofilizado obtidos através da EAU otimizada com fluxo de nitrogênio livre de oxigênio para redução de degradação e isomerização do licopeno, tendo como solvente a mistura hexano/acetona/etanol (2:1:1).

Observa-se ainda, que para os extratos provenientes de tomates irradiados e extraídos na condição de 12 minutos a composição no teor de licopeno foi bem abaixo das demais amostras (Tabela 16). As mudanças estruturais ocorridas no carotenoide majoritário, o licopeno no presente estudo, estão diretamente relacionados a etapa de EAU, onde o processo de cavitação provoca a geração de calor e a consequente isomerização do licopeno. Este, processo corrobora com a afirmativa de Bramley (2000), que relaciona a biodisponibilidade do licopeno as modificações provocadas pelo calor. O *cis*-licopeno apresenta vantagens em termos biológicos, isso porque sua estrutura física e química é mais bem aproveitada pelo organismo que na forma de *trans*-isômero, devido sua melhor solubilidade nas micelas e seu comprimento reduzido (COZZOLINO, 2005).

Os resultados estão em concordância com estudo realizado por Eh e Teoh (2012), que observaram redução de cerca de 76% no conteúdo de *trans*-licopeno obtido através de extração tradicional por sonificação de tomate liofilizado, em diferentes condições experimentais. Os picos (2) identificados em todos os cromatogramas dos extratos de tomate cereja (Figura 18 e Apêndice C - Figuras 31 a 38) com tempos de retenção médio de 16 minutos e lido no comprimento de onda de 454 nm representam o provável *cis*-licopeno. Este isômero surge nos alimentos, além exposição ao calor, em decorrência do estresse oxidativo ocorrido naturalmente durante as fases de maturação, durante o tempo de estocagem devido as condições do processo (Liu et al., 2009), ou processamento de matrizes vegetais. Boileau et al. (2002) afirmou que 80 a 97% do licopeno disponível nas fontes alimentares é encontrado em sua forma isomérica *all-trans*. Com isso apenas uma pequena parcela desse licopeno está naturalmente disponível na forma de *cis*-licopeno.

Figura 18 - Cromatograma do extrato UV1 8.2 com destaque para os picos dos carotenoides lidos nos comprimentos de onda entre 450 e 475 nm.



Carotenoide: (1) *trans*-licopeno (leitura em 472 nm; TR: 12,7 min.); (2) *cis*-licopeno (leitura: 454 nm; T_r: 16,0 min.) (isômero provável); (3) resíduos decorrente do provável baixo grau de pureza dos extratos Fonte: Dados do autor (2017).

Outro fator a ser observado ao analisar os cromatogramas dos extratos de tomate cereja, é a presença de outros carotenoides e seus isômeros, pela visualização de outros picos além do licopeno, identificado entre 12,7 e 13 minutos, e confirmado em comparação direta com os picos encontrados nos cromatogramas do padrão.

Apesar da identificação e quantificação de licopeno por HPLC apresentar resultados mais precisos que outras técnicas (NELLIS et al. 2017), aspectos como a variabilidade qualitativa e quantitativa dos alimentos, presença de um grande número de carotenoides, variação da quantidade de carotenoides em um mesmo produto e/ou matéria-prima biológica (diferentes partes do alimento), a natureza variável das matrizes alimentícias, entre outros, são fatores influentes na identificação dos carotenoides (RODRIGUES-AMAYA et al. 2008). A combinação de alguns destes fatores pode explicar em parte a aleatoriedade entre os conjuntos de extratos obtidos (com ou sem tratamento UV-C) para a quantidade de licopeno nas amostras (Tabela 16).

Os resultados obtidos, corroboram com os dados apresentados na literatura, no que tange a utilização da radiação UV-C em vegetais para o aumento da disponibilidade de alguns compostos bioativos e credencia a EAU como uma boa escolha devido o potencial de isomerização (de *trans*-licopeno para *cis*-licopeno).

4.6 TEOR DE FENÓLICOS TOTAIS (TFT)

Os teores de compostos fenólicos totais dos extratos estão apresentados na Tabela 17. Os resultados variaram entre 9,4 e 44,4 mg EAG/g. A curva padrão do ácido gálico, utilizada para o cálculo do TFT, encontra-se no Apêndice B.

Tabela 17 - Teor de compostos fenólicos total (TFT), expressos em equivalentes de ácido gálico para os extratos de tomate cereja (*L. esculentum*).

Tratamento	Condição		TFT (mg	
	Tempo (min)	Solvente (Etanol) mL	EAG/g _{extrato}) ⁽¹⁾	
C	4	50	15,8 ± 2,2 ^{FB}	
	4	100	12,7 ± 1,6 ^{FB}	
	4	150	17,1 ± 1,7 ^{FB}	
	8	50	9,8 ± 0,5 ^{FB}	
	8	100	36,1 ± 2,2 ^{bcB}	
	8	150	14,1 ± 0,9 ^{FB}	
	12	50	15,4 ± 0,5 ^{FB}	
	12	100	16,6 ± 0,9 ^{FB}	
	12	150	9,4 ± 0,9 ^{FB}	
	UV1	4	50	41,5 ± 1,1 ^{BB}
		4	100	22,9 ± 1,4 ^{cdefB}
		4	150	23,6 ± 1,6 ^{cdefB}
8		50	16,5 ± 1,8 ^{FB}	
8		100	24,0 ± 1,8 ^{cdefB}	
8		150	19,5 ± 0,8 ^{efB}	
12		50	17,3 ± 1,3 ^{efB}	
12		100	18,1 ± 1,5 ^{efB}	
12		150	19,4 ± 1,0 ^{efB}	
UV2		4	50	22,7 ± 0,4 ^{cdefB}
		4	100	14,7 ± 0,9 ^{FB}
		4	150	15,9 ± 0,7 ^{FB}
	8	50	44,4 ± 1,7 ^{BB}	
	8	100	20,3 ± 1,4 ^{defB}	
	8	150	18,7 ± 0,8 ^{efB}	
	12	50	34,4 ± 2,0 ^{bcdB}	
	12	100	31,9 ± 4,4 ^{bcdB}	
	12	150	15,6 ± 1,0 ^{FB}	
	BHT			465,5 ± 23,1 ^{aA}

*Letras minúsculas iguais na mesma coluna indicam que não há diferença significativa ($p < 0,05$); Letras maiúsculas iguais na mesma coluna indicam que não há diferença significativa ($p < 0,05$) pelo teste de Tukey entre as amostras; ⁽¹⁾ Teor de fenólicos totais (TFT); Fonte: Dados do autor (2016).

Os valores estão bem abaixo dos 465,5 mg EAG/g obtido para o antioxidante sintético BHT, que diferiu significativamente de todos os extratos, de acordo com o teste de Tukey ao nível de 5% de significância. A comparação de resultados de TFT em relação ao uso de UV-C como tratamento de tomates foi dificultada pela escassez de estudos disponíveis na literatura.

Compostos fenólicos são metabólitos secundários e têm sua produção relacionada a condição de estresse a que plantas e frutos são submetidos. A radiação, principalmente a ultravioleta, está relacionada à produção de compostos fenólicos (REAY; LANCASTER, 2001).

Entre os tratamentos com radiação UV-C testados não houve diferença significativa que induzisse o aumento do teor de compostos fenólicos totais, mesmo quando comparado ao controle (C). Esses resultados possibilitam a análise de que a radiação ultravioleta, na dose e intensidade usadas, não foi fator predominante para o maior acúmulo de compostos fenólicos nas amostras.

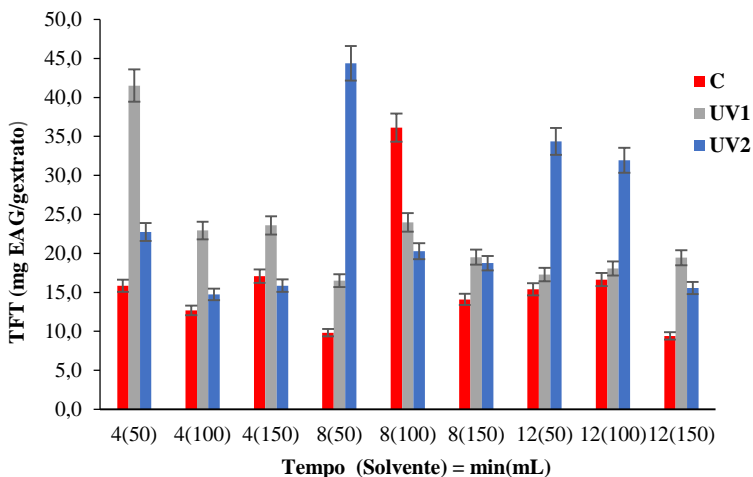
Essas afirmações são sustentadas pela observação de que os três melhores resultados para TFT foram, 44,4; 41,5; e 36,1 mg EAG/g_{extrato}, respectivamente de amostras dos grupos UV2, UV1 e C (Tabela 17), não havendo nenhum aumento significativo expressivo pelo uso da irradiação, não corroborando com alguns estudos de Bravo et al. (2012) que observou o aumento no TFT em tomates verdes com doses de 1200 mJ/cm², em tempos variáveis de 3 a 12 horas de exposição, após 8 dias de armazenamento. O aumento no teor de fenólicos também foi reportado por Liu et. al. (2012), obtendo resultados significativos (a partir do décimo quarto dia de armazenamento) para tomates maduros submetidos a doses de radiação variando de 200 a 1600 mJ/cm² em relação ao controle.

Vários fatores podem ter contribuído para os resultados diferentes em relação a literatura. Entre outros, a variedade dos tomates utilizados, as condições de colheita e armazenamento, mas principalmente as condições de exposição, o tipo de equipamento, disposição dos frutos durante a radiação, e as diferenças no estágio de maturação dos frutos. Outro fator decorrente do processo foi os tempos de exposição usados. O tempo de 60 minutos pode não ter sido suficiente para a luz UV-C induzir uma resposta ao estresse dos frutos que provocasse a ativação da via de biossíntese fenólica, levando ao acúmulo de compostos fenólicos. Outro fator a ser considerado é a alta concentração de licopeno presente nos extratos, tendo em vista a alta solubilidade do licopeno em meio hidro alcoólico.

A forma de obtenção dos extratos é outro aspecto que deve ser considerado para os valores de TFT. Acredita-se que a extração por ultrassom, através do mecanismo gerado pela cavitação, seja responsável por facilitar a liberação e solubilização dos compostos intrínsecos a matriz vegetal, e que a sua associação a polaridade do solvente favoreça a melhor extração de compostos fenólicos (MA et al., 2008), porém afim de confirmar esta afirmativa para o presente estudo, a comparação com outras técnicas de extração se faz necessária.

Entre as condições de extração avaliadas os melhores resultados foram para condições com menor quantidade do solvente etanol combinado aos tempos de extração de 4 e 8 minutos. A Figura 19, apresenta os valores anteriormente expostos na Tabela 17, apenas em função das condições de EAU.

Figura 19 - Gráfico do teor de TFT nos extratos de tomate cereja, em função da combinação das condições de extração.



Fonte: Elaborado pelo autor (2017).

A escolha do solvente etanol foi baseada nos resultados de estudos anteriores, em que entre muitos solventes utilizados para extração de fenólicos de matrizes vegetais diversas, o etanol foi o que apresentou melhores resultados. Esta característica do etanol está associada à sua característica polar (BISCAIA, 2009). Leva-se em conta também a teoria da intermiscibilidade, que afirma que os compostos fenólicos são facilmente dissolvidos a partir de células vegetais, quando

há semelhança entre as polaridades dos fenólicos e do solvente (GRIBOVA et al., 2008).

Os resultados obtidos para fenólicos totais, de 41,5 e 44,4 mg EAG/g_{extrato} (Tabela 17) considerando as duas condições de extração, destacam que o uso de menores concentrações de solvente e tempos de extração reduzidos e intermediários, tenderam a resultados mais favoráveis para compostos fenólicos, porém poucos extratos apresentaram tal comportamento, necessitando de novos testes com novas variáveis que comprovem esta observação.

Este comportamento corrobora parcialmente com resultados encontrados por Feng et al. (2015), que observou o aumento da extração de fenólicos com o aumento da concentração de solvente no início da extração, porém notou o comportamento inverso quando a taxa de extração de fenólicos atingiu certo valor, considerando que neste momento a polaridade do solvente foi invertida e a extração passou a diminuir.

De maneira geral, as avaliações dos resultados desta análise indicam que tanto o tratamento UV-C quanto as técnicas e condições de extração necessitam de melhorias.

4.7 ATIVIDADE ANTIOXIDANTE PELO MÉTODO ABTS

A determinação da atividade antioxidante pelo método ABTS teve como objetivo avaliar a capacidade dos extratos de tomate cereja irradiados, pelo sequestro do radical cátion 2,2 - azinobis (3-etilbenzotiazolína-6-ácido sulfônico) (ABTS), comparado a um padrão antioxidante (Trolox, 6-hidroxi-2,5,7,8-tetrametilcromano-2-ácido carboxílico) em uma curva dose-resposta. Este método apresenta vantagens de aplicação como simplicidade técnica, reprodutibilidade, diversidade e uso flexível em múltiplos meios para determinar tanto a capacidade antioxidante hidrofílica e lipofílica de extratos alimentares, devido à solubilidade do reagente/radical em meios aquosos e solventes orgânicos (APAK et al., 2007).

Os resultados de atividade antioxidante dos extratos de tomate cereja são apresentados na Tabela 18 em μM TEAC (Trolox Equivalent Antioxidant Capacity)/g, μM atividade antioxidante em equivalente Trolox por grama de extrato.

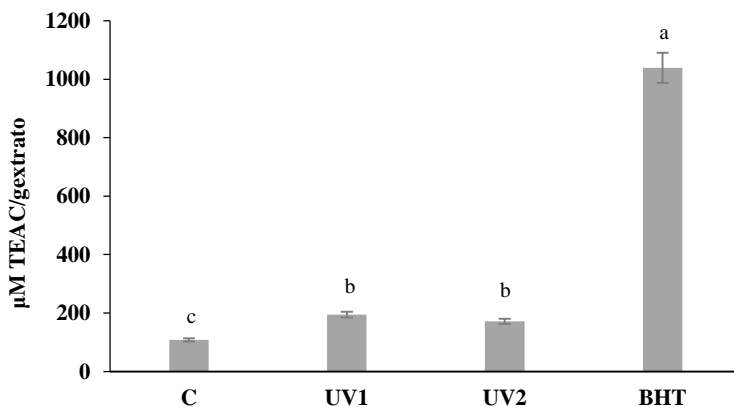
Tabela 18 - Capacidade antioxidante determinado pelo método do radical ABTS para extrato de tomate cereja (*L. esculentum*).

Tratamento	Condição		ABTS (μM TEAC/g _{extrato}) ¹	
	Tempo (min)	Solvente (Etanol) mL		
C	4	50	137,5 \pm 0,4 ^{iC}	
	4	100	107,8 \pm 0,6 ^{jklmC}	
	4	150	97,5 \pm 31,8 ^{mC}	
	8	50	241,3 \pm 1,0 ^{deC}	
	8	100	128,1 \pm 19,5 ^{ijklC}	
	8	150	105,7 \pm 0,1 ^{klmC}	
	12	50	107,14 \pm 0,1 ^{ijklmC}	
	12	100	106,2 \pm 0,2 ^{klmC}	
	12	150	144,6 \pm 0,3 ^{hiC}	
	UV1	4	50	258,1 \pm 18,4 ^{CB}
		4	100	194,5 \pm 0,5 ^{fgB}
		4	150	147,2 \pm 18,3 ^{hiB}
8		50	137,9 \pm 0,5 ^{iB}	
8		100	214,8 \pm 1,1 ^{efB}	
8		150	132,5 \pm 0,4 ^{ijkB}	
12		50	135,3 \pm 0,6 ^{ijB}	
12		100	198,4 \pm 1,0 ^{fgB}	
12		150	279,7 \pm 1,3 ^{efB}	
UV2		4	50	268,7 \pm 0,7 ^{CB}
		4	100	100,6 \pm 0,2 ^{lmB}
		4	150	169,9 \pm 0,7 ^{ghB}
	8	50	241,9 \pm 0,4 ^{deB}	
	8	100	352,2 \pm 4,2 ^{bb}	
	8	150	171,4 \pm 0,8 ^{ghB}	
	12	50	218,7 \pm 1,3 ^{efB}	
	12	100	94,3 \pm 0,2 ^{mB}	
	12	150	94,7 \pm 0,4 ^{mB}	
	BHT			1039,0 \pm 12,2 ^{aA}

*Letras minúsculas iguais na coluna indica que não há diferença significativa entre as amostras para as condições de EAU; Letras maiúsculas iguais na mesma coluna, indicam que não há diferença significativa entre as amostras, relacionadas aos tratamentos UV-C e controle. Onde ($p < 0,05$), pelo teste de Tukey;⁽¹⁾ Capacidade antioxidante em Trolox equivalentes. Fonte: Dados do autor (2017).

A partir da observação dos resultados, é possível notar que nenhum dos tratamentos UV-C combinados com a extração assistida por ultrassom obtiveram resultados melhores frente ao resultado obtido para o composto sintético BHT. Entretanto, o tratamento com UV-C, influenciou positivamente a capacidade antioxidante nos dois tratamentos (UV1 e UV2), não sendo significativamente diferentes entre si, porém apresentaram diferença significativa em relação as amostras controle (C), como mostra a Figura 20, com as médias de atividade antioxidante de (C, UV1, UV2 e BHT).

Figura 20 - Média da atividade antioxidante pelo método ABTS.



Fonte: Elaborado pelo autor (2017).

Os resultados mostram que baixas doses de radiação podem promover o aumento significativo da atividade antioxidante em tomates pós colheita, estando em acordo com as afirmações de Ribeiro et al. (2012), de que doses baixas de radiação UV-C ($< 1000 \text{ mJ/cm}^2$) promovem o estímulo para formação e aumento de compostos bioativos com funções antioxidantes, aumentando o valor nutricional dos produtos tratados.

Para o tomate, a atividade antioxidante sofre grande influência em função dos carotenoides e compostos fenólicos (GIOVANELLI et al., 1999). Logo, com base nos resultados das amostras para o teor de licopeno, é possível entender parte do comportamento atribuído a atividade antioxidante.

A tendência geral de aumento nos compostos fenólicos e teor de licopeno observada para os tomates que sofreram radiação, não foi suficientemente eficaz para causar uma alteração apreciável no valor absoluto dos antioxidantes. Este comportamento pode ter sido condicionado a forma de extração escolhida para obtenção dos extratos.

Ainda analisando os dados da Tabela 18, observar-se que as condições de extração, além de não demonstrarem um comportamento linear na evolução dos resultados, também não influenciaram de maneira significativa a atividade antioxidante dos mesmos. Este comportamento pode estar associado a não homogeneidade do pó de tomate. Entretanto, vale destacar que para as extrações com tempos de 4 e 8 (min), com 50 e 100 mL de solvente, os valores são significativamente expressivos para as três amostras, a exemplo dos $352,2 \mu\text{M TEAC}/\text{g}_{\text{extrato}}$ na condição de 8 minutos e 100 mL, obtidos no tratamento UV2, diferente significativamente dos outros extratos.

Como relatado na Tabela 4, do item 2.5.2, os efeitos da EAU podem ser adversos em relação a melhoria dos componentes dos alimentos, levando a crer que as condições de extração não foram as melhores, abrindo o precedente para otimização desse processo para futuros trabalhos.

4.8 ATIVIDADE ANTIOXIDANTE PELO MÉTODO DPPH

A atividade antioxidante dos extratos de tomate cereja foi avaliada pelo método do radical DPPH (2,2-difenil-1-picrilhidrazil) e expressa em EC_{50} . O valor de EC_{50} representa a concentração efetiva para que se atinja 50 % de atividade antioxidante. Diante disso, quanto menor o valor de EC_{50} , maior é a atividade antioxidante do extrato.

A análise estatística dos dados da atividade antioxidante foi realizada quanto a influência da radiação UV-C e das extrações por ultrassom, separadamente.

Os resultados de atividade antioxidante dos extratos de tomate cereja, obtidos pelo método de captura do radical DPPH estão apresentados na Tabela 19, juntamente com o resultado de BHT para efeito de comparação.

Tabela 19 - Avaliação do potencial antioxidante dos extratos de Tomate cereja (*L. esculentum*) através do método DPPH, expressos através da concentração efetiva a 50 % de atividade (EC₅₀).

Tratamento	Condição		EC ₅₀ (µg/mL)*	
	Tempo (min)	Solvente (Etanol) mL		
C	4	50	565,5 ± 1,3 ^{jC}	
	4	100	689,4 ± 3,0 ^{pC}	
	4	150	679,9 ± 1,4 ^{opC}	
	8	50	903,5 ± 4,0 ^{sC}	
	8	100	632,3 ± 7,2 ^{iC}	
	8	150	688,3 ± 2,4 ^{pC}	
	12	50	668,7 ± 2,5 ^{noC}	
	12	100	515,1 ± 2,7 ^{hiC}	
	12	150	424,8 ± 2,3 ^{iC}	
	UV1	4	50	471,6 ± 4,7 ^{gB}
		4	100	712,5 ± 8,8 ^{qB}
		4	150	401,5 ± 3,6 ^{eB}
8		50	530,8 ± 2,6 ^{iB}	
8		100	351,4 ± 4,4 ^{cB}	
8		150	392,8 ± 6,5 ^{deB}	
12		50	312,0 ± 12,0 ^{bbB}	
12		100	513,7 ± 4,8 ^{hbB}	
12		150	336,3 ± 2,2 ^{cB}	
UV2		4	50	511,0 ± 2,3 ^{hC}
		4	100	655,0 ± 4,0 ^{mC}
		4	150	645,9 ± 7,3 ^{lmC}
	8	50	383,1 ± 2,8 ^{dC}	
	8	100	596,9 ± 15,1 ^{kC}	
	8	150	745,5 ± 4,0 ^{rC}	
	12	50	550,7 ± 4,1 ^{jC}	
	12	100	586,9 ± 5,3 ^{kC}	
	12	150	668,0 ± 1,3 ^{mnoC}	
	BHT			72,2 ± 3,5 ^{aA}

*Letras minúsculas iguais na coluna indica que não há diferença significativa entre as amostras para as condições de EAU; Letras maiúsculas iguais na mesma coluna, indicam que não há diferença significativa entre as amostras, relacionadas aos tratamentos UV-C e controle. Onde (p<0,05), pelo teste de Tukey; ⁽¹⁾ Capacidade antioxidante em EC₅₀ (*Equivalent concentration*). Fonte: Dados do autor (2017).

Conforme apresentado na Tabela 19, o tratamento com radiação UV-C que apresentou maior atividade antioxidante foi o UV1, com dose de 593 mJ/cm² e intensidade de 1,5W/m², com diferença significativa, ao nível de 5% pelo teste de Tukey, para o controle, UV1 e BHT.

Os resultados foram acima dos 250 µg/mL, valor considerado limite para materiais com alto potencial antioxidante (CAMPOS et al., 2008). No geral, a baixa capacidade antioxidante encontrada pode ser atribuída principalmente a diminuição no teor de compostos fenólicos observado neste estudo. No entanto, é provável que alguns carotenoides presentes no tomate também tenham influenciado na atividade antioxidante.

Os dados encontrados atualmente na literatura acerca dos efeitos do tratamento UV-C com baixas doses sobre o potencial antioxidante, além de escassos, apresentam conclusões contraditórias. Porém alguns estudos corroboram com os resultados apresentados nesta pesquisa. Pataro et al. (2015), Bravo et al. (2012) e Liu et al. (2012) observaram efeitos positivos do tratamento UV-C em doses brandas em tomates de variedades e estádios de maturação distintos, após período de armazenamento. Nos estudos de Jagadeesh et al. (2009) não houve efeito significativo a atividade antioxidante em tomates submetidos a radiação, resultado análogo ao obtido por Guan et al. (2012) em cogumelos. Resultados que entram em consonância com os obtidos no presente estudo para os tratamentos UV2 com doses de 992 mJ/cm².

O efeito da luz UV-C em doses baixas, denominado de “hormesis” foi um conceito estudado no início da década de 80 e que teve seus resultados aprimorados em estudos por Liu et al. (1993) e Maharaj et al. (1995), em tomates pós-colheita, após a observação da indução da resistência dos frutos e vegetais durante o armazenamento pós-colheita prolongando a vida de prateleira. A dose UV-C, “hormética”, seria então a dose mínima necessária para estimular uma resposta benéfica ao vegetal, tal como um estresse físico ou um agente químico inibidor.

Através dos resultados da Tabela 19, pode-se constatar que a extração assistida por ultrassom não apresentou resultados que indicasse que esse processo é adequado para obtenção dos compostos antioxidantes presentes nos extratos de tomate cereja em pó.

Muitos fatores podem ter contribuído para a aleatoriedade dos resultados. Alimentos com composição elevada de substâncias antioxidantes tendem sofrer ação do oxigênio e degradar-se. É o caso do tomate com várias vitaminas com propriedades antioxidantes que durante o processo de mistura no ultrassom podem ter seus

antioxidantes afetados por radicais livres da oxigenação ou da termo-sonificação (OLIVEIRA et al., 2015).

É possível observar que a atividade antioxidante dos extratos testados não está diretamente relacionada ao teor de compostos fenólicos, visto que os resultados significativamente ($P < 0,05$) melhores para atividade antioxidante, 312,0 e 336,3 $\mu\text{g/mL}$ (Tabela 19), para as condições de 12 minutos com 50 e 150 mL de solvente (etanol), não foram as melhores condições para TFT (Tabela 16). Por conseguinte, pode-se concluir que a atividade antioxidante não depende somente da presença dos compostos fenólicos, mas também de outros compostos com alta atividade antioxidante que possam ter tido sua biodisponibilidade reduzida ou prejudicada em decorrência de fatores inerentes as condições experimentais.

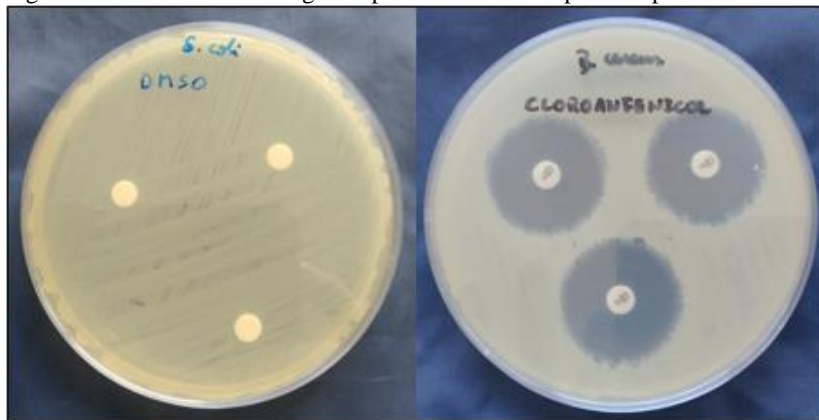
4.9 ATIVIDADE ANTIMICROBIANA

4.9.1 Método de difusão em ágar

A atividade antimicrobiana dos extratos foi inicialmente avaliada pelo método qualitativo de difusão em ágar, conforme procedimento descrito no item 3.11.1. Atuando como um teste de triagem, a difusão em ágar buscou avaliar se os extratos possuem capacidade para inibir o crescimento dos micro-organismos de interesse. Para as análises foram selecionadas 9 amostras obtidas por extração na condição central de concentração de solvente (1:20 m/v) (5g de amostra para 100 mL de solvente), descrito no item 3.5, de um total de 27, sendo então submetidas ao crescimento de três bactérias Gram-positivas, duas Gram-negativa e uma levedura.

Para os testes negativos (ausência de halo de inibição) e positivos (inibição de crescimento) foram utilizados respectivamente a solução de DMSO até 60% e antibióticos específicos para cada micro-organismo, baseado em estudos reportados na literatura. Para *B. cereus*, *E. coli*, e *S. aureus*, o Cloranfenicol foi o antibiótico mais indicado. Para *P. aeruginosa* o Ciprofloxacina, para *S. cerevisiae* o antibiótico foi o Nystatin, e para *L. innocua* o Trimethoprim foi o mais indicado. A Figura 18, são apresentados exemplos de dois testes realizados para ausência e presença de inibição de crescimento.

Figura 21 - Placas de teste negativo para *E. coli* e teste positivo para *B. cereus*.



Fonte: Elaborado pelo autor (2017).

Na Tabela 19 são apresentados os resultados obtidos em termos de tamanho dos halos de inibição (mm) para cada micro-organismo testado, incluindo os extratos que não apresentaram inibição (SIC).

Tabela 20 - Resultados do teste de difusão em ágar expressos em tamanho do halo de inibição (mm) para os extratos de tomate cereja (*L. esculentum*).

Amostra*	Halo de inibição (mm)					
	<i>P. aeruginosa</i>	<i>E. Coli</i>	<i>L. innocua</i>	<i>B. cereus</i>	<i>S. aureus</i>	<i>S. cerevisiae</i>
C.4.2	SIC	SIC	7,3 ^a	6,4 ^b	SIC	SIC
C.8.2	SIC	6,8 ^b	7,8 ^a	6,2 ^b	SIC	SIC
C.12.2	SIC	7,1 ^b	7,6 ^a	7,1 ^b	SIC	SIC
UV1.4.2	SIC	SIC	7,9 ^a	6,6 ^b	SIC	SIC
UV1.8.2	SIC	7,4 ^a	7,6 ^a	6,4 ^b	SIC	SIC
UV1.12.2	SIC	7,1 ^{ab}	7,8 ^a	6,4 ^b	6,7 ^a	SIC
UV2.4.2	SIC	7,4 ^a	8,0 ^a	8,6 ^a	SIC	SIC
UV2.8.2	SIC	7,4 ^a	7,3 ^a	7,0 ^b	6,8 ^a	SIC
UV2.12.2	SIC	7,5 ^a	7,7 ^a	7,1 ^b	7,1 ^a	SIC

*Amostra: Codificação conforme descrito na Tabela 5. Letras iguais na coluna indicam que não há diferença significativa ($p < 0,05$); SIC - Sem inibição do crescimento. Fonte: Dados do autor (2017).

Observando os resultados para a bactéria Gram-negativa *Pseudomonas aeruginosa* e para a levedura *Saccharomyces cerevisiae*, nenhum extrato apresentou inibição de crescimento. Entretanto, para

Staphylococcus aureus, apenas três extratos apresentaram inibição, todos oriundos de tomates submetidas ao tratamento com radiação ultravioleta, e tempos de 8 e 12 minutos de extração. Não houve diferenças significativas entre as amostras.

Os melhores resultados em termos de halo de inibição foram para o extrato UV2.4.2, que apresentou inibição de crescimento de 8,0 mm para *Listeria innocua*, e de 8,6 mm para *Bacillus cereus*, porém apenas o segundo resultado apresentou diferença significativa. Halos de inibição de 9 a 13 mm são considerados extratos com poder de inibição moderado, já halos a partir de 14 mm caracterizam extratos com forte atividade inibitória (MOTHANA; LINDEQUIST, 2005).

A presença de poder de inibição para *E. coli*, mesmo que ativamente baixo, destaca-se, quando consideramos que, as bactérias Gram-negativas apresentam maior resistência aos agentes antimicrobianos, em decorrência da considerável diferença estrutural que há entre sua parede celular e a parede das bactérias Gram-positivas. As bactérias Gram-negativas possuem uma membrana exterior em torno da parede celular, limitando a disseminação dos compostos hidrofóbicos através do seu revestimento. Com isso, por não possuir uma membrana externa, a parede celular de bactérias Gram-positivas pode ser permeada pelos constituintes dos extratos de maneira menos dispendiosa (TIAN et al., 2009). No entanto, nem sempre estas características garantem maior vulnerabilidade às bactérias Gram-positivas (TAJKARIMI; IBRAHIM; CLIVER, 2010).

A inibição de crescimento para o extrato UV2.4.2 conduz a hipótese de que o tratamento UV-C associado a extração por ultrassom, em condições de tempo reduzidas, podem elevar o potencial antimicrobiano dos extratos. Porém, pela escassez de dados na literatura não foi possível fazer comparações que corroborem ou não com este estudo. Para os demais extratos, mesmo apresentando diferenças significativas entre si, os resultados foram abaixo dos 8 mm, considerado fraco para inibição de crescimento. Mudanças na polaridade do solvente de extração, na temperatura e tempo de processo, ou mesmo o aumento do estresse oxidativo causado pela radiação ultravioleta, podem ser critérios passíveis de otimização em detrimento de resultados mais expressivos para inibição.

No geral, essas mudanças pontuais podem alterar a disponibilidade de outros compostos químicos presentes no extrato vegetal, tendo em vista que a atividade antimicrobiana provavelmente não é atribuída a apenas um composto específico, e o efeito desses

antimicrobianos naturais ainda não está completamente elucidado (BURT, 2004; TIWARI et al., 2009).

4.9.2 Método da Concentração Mínima Inibitória (CMI)

Os extratos que apresentaram halo de inibição de crescimento, mesmo que abaixo de 8 mm, para os micro-organismos testados no método anterior (Tabela 21), foram submetidos ao método quantitativo de microdiluição em caldo de cultivo para a determinação da concentração mínima inibitória (CMI) na menor concentração de extrato capaz de inibir o crescimento de um micro-organismo específico.

Como nenhum dos extratos foi capaz de inibir a bactéria *Pseudomonas aeruginosa* e a levedura *Saccharomyces cerevisiae* no teste de difusão em ágar (Tabela 19), optou-se por não realizar o teste quantitativo de CMI para esses dois microrganismos. Os resultados do teste de microdiluição em caldo de cultivo estão expostos na Tabela 20.

Tabela 21 - Concentração Mínima Inibitória (CMI) para os extratos de tomate cereja (*L. esculentum*).

Amostra*	Concentração Mínima Inibitória (µg/mL)			
	<i>E. Coli</i>	<i>L. innocua</i>	<i>B. cereus</i>	<i>S. aureus</i>
C.4.2	2000	2000	SIC	SIC
C.8.2	2000	500	SIC	SIC
C.12.2	1000	500	SIC	SIC
UV1.4.2	1000	1000	SIC	SIC
UV1.8.2	500	1000	1000	SIC
UV1.12.2	1000	1000	1000	SIC
UV2.4.2	1000	1000	SIC	1000
UV2.8.2	1000	500	SIC	1000
UV2.12.2	2000	500	1000	SIC

*Amostra: Codificação conforme Tabela 5; SIC: Sem inibição de crescimento.

Fonte: Dados do autor (2017).

Conforme os dados da Tabela 21, a concentração mínima inibitória variou de 500 a 2000 µg/mL para os extratos de tomate cereja. Alguns dados da literatura afirmam que a classificação da intensidade dos agentes microbianos pode ser estabelecida tendo como parâmetro os valores da concentração mínima inibitória (SARTORATTO et al., 2004; DUARTE et al., 2007; WANG et al., 2008). A faixa de CMI mais usual para classificação do extrato estipula que um forte inibidor até 500

$\mu\text{g/mL}$, entre 600 e 1500 $\mu\text{g/mL}$, um inibidor moderado, e um fraco inibidor acima de 1600 $\mu\text{g/mL}$ (MICHELIN et al., 2009).

Os resultados obtidos mostram que os extratos de tomate cereja, independente do tratamento com UV-C e das condições de extração, foram mais eficazes em inibir o crescimento das bactérias *Escherichia coli* e *Listeria innocua*, bactérias Gram-negativa e Gram-positiva, respectivamente. Neste contexto, os resultados apontam que os extratos C.8.2, C.12.2, UV2.8.2 e UV2.12.2 agiram como fortes inibidores para *Listeria innocua*. Já os demais extratos, com exceção do extrato C.4.2 (2000 $\mu\text{g/mL}$), são classificados como inibidores moderados.

Estes resultados, levantam a hipótese de que o maior tempo de extração pode melhorar a característica inibitória dos extratos. Suposição que corrobora com os resultados encontrado por Piovesan et al. (2016) que observou comportamento semelhante em extratos de mirtilo extraídos por ultrassom, e Chew et al. (2011), que afirma que quanto maior o tempo de extração, maior a quantidade de compostos bioativos extraídos, aumentando a possibilidade de os extratos agirem como bons inibidores de patógenos.

Para bactéria Gram-negativa *Escherichia coli*, apenas o extrato UV1.8.2 apresentou característica de forte inibidor (500 $\mu\text{g/mL}$). Este resultado condiz, em parte, com o resultado apresentado para o teste quantitativo de difusão em ágar, pois, apesar deste extrato não ter apresentado resultados acima dos 8 mm de halo de inibição para *E. coli* (Tabela 20), foi um dos extratos que apresentou melhor resultado de inibição de crescimento microbiano.

O efeito inibitório relacionado aos compostos químicos presentes nos extratos, oriundos de matrizes, ainda não estão totalmente esclarecidos na literatura. Todavia, alguns relatos da relação de compostos fenólicos no efeito antimicrobiano têm sido descritos (GUINDANI, et al., 2016). Este efeito inibitório associado aos compostos fenólicos pode ser explicado pela capacidade de ligação, através das pontes de hidrogênio, com as proteínas da membrana bacteriana levando a mudanças na permeabilidade da membrana, ou até mesmo por meio da penetração dessas substâncias na célula bacteriana, o que acarreta na coagulação de seu conteúdo (SENGUL et al., 2014).

De acordo os resultados obtidos, é possível inferir que tanto o tratamento UV-C quanto as EAU apresentam potencial promissor como tecnologia alternativa na busca por extratos vegetais com atividade antimicrobiana. Tal potencial deve-se em parte, a capacidade de alteração da biodisponibilidade dos compostos químicos presentes na

matriz vegetal, característica essa, inerente a ambas as tecnologias testadas.

5 CONCLUSÃO

As amostras irradiadas com radiação UV-C apresentaram aumento médio de 5,8 vezes no teor de licopeno que as amostras controle, para método espectrofotométrico. Os cromatogramas obtidos por HPLC mostram que o licopeno se apresentou nas formas isoméricas *cis* e *trans*, em decorrência do processo de extração, além da presença de outros carotenoides, não identificados, em menor proporção.

A atividade antioxidante foi influenciada pela luz UV-C ocorrendo um aumento significativo quando comparado ao controle. Entretanto, o poder antioxidante dos extratos foi considerado baixo.

A atividade antimicrobiana dos extratos apresentou eficácia em inibir o crescimento, principalmente, das bactérias *Escherichia coli*, *Listeria innocua* e *Bacillus cereus*, nos extratos de tomate cereja irradiados na dose e intensidade mais elevada.

Por fim, com os dados experimentais obtidos, é possível comparar o quanto cada tecnologia utilizada teve influência real no resultado final, analisando os fatores positivos e opostos. O tratamento com radiação UV-C nos tomates foi efetivo no estresse oxidativo, contribuindo para o aumento e disponibilidade de conteúdo antioxidante, além disso, a associação com a EAU proporcionou extratos com alto conteúdo de licopeno e atividade antimicrobiana.

SUGESTÕES PARA TRABALHOS FUTUROS

- a) Uso de doses e intensidades de radiação mais elevadas;
- b) Uso de matéria prima em estágio pré-maturação;
- c) Acompanhar as alterações na matéria-prima (pós radiação) durante todo o tempo de vida de prateleira;
- d) Otimizar a técnica de Extração Assistida por Ultrassom;
- e) Utilização de outras técnicas cromatográficas e/ou padrões cromatográficos que possibilitem a identificação dos isômeros do licopeno, e bem como os demais carotenoides presentes nos extratos.

REFERÊNCIAS

ADAMS, M. M. **Estudo de diferentes métodos de extração por ultrassom de pesticidas em latossolo utilizando técnicas cromatográficas**. 2002. 69 f. Dissertação (Mestrado em Química) - Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, 2002.

ADEKUNTE, A. O. et al. Effect of sonication on colour, ascorbic acid and yeast inactivation in tomato juice. **Food Chemistry**, v. 122, n.3, p.500-507, oct. 2010.

AGRIANUAL. **Anuário da agricultura brasileira**. 16 ed. São Paulo: AgraFNT, 2011. 502 p.

AKELERE, O. Importance of Medicinal Plants: WHO'S Programme. In: NATURAL RESOURCES AND HUMAN HEALTH. **Elsevier Science Publishers**, Amsterdam, Netherlands. 1992. p. 63-67.

ALVARENGA, Marco Antonio Rezende. **Tomate: produção em campo, em casa-de-vegetação e em hidroponia**. 2 ed. Lavras: UFLA, 2004. 400 p.

ALVES, C. Q. et al. Métodos para determinação de atividade antioxidante in vitro em substratos orgânicos. **Quím. Nova**, São Paulo, v. 33, n. 10, p. 2202-2210, out. 2010.

ALOTHMAN, M.; BHAT, R.; KARIM, A. A. UV radiation-induced changes of antioxidant capacity of fresh-cut tropical fruits. **Innovative Food Science and Emerging Technologies**, v. 10, p. 512-516, oct. 2009.

ANB. **Anuário Brasileiro de Tomate**. Ed. Gazeta, Santa Cruz do Sul, 2016. 84 p.

ANESE, M. et al. Effect of ultrasound treatments of tomato pulp on microstructure and lycopene in vitro bioaccessibility. **Food Chemistry**, v. 136, n.2, p. 458-463, jan. 2013.

- APAK, R. et al. Comparative evaluation of various total antioxidant capacity assays applied to phenolic compounds with the CUPRAC Assay. **Molecules**, v. 12, n.7, p. 1496-1547, jul. 2007.
- ARTÉS-CALERO, F. et al. Sustainable sanitation techniques for keeping quality and safety of fresh-cut plant commodities. **Postharvest Biology and Technology**, v.51, 287-296, mar. 2009.
- ASHOKKUMAR, M. et al. Modification of food ingredients by ultrasound to improve functionality: A preliminary study on a model system. **Innovative Food Science and Emerging Technologies**, v. 9, p. 155-160, oct. 2008.
- ÁVILA, H. P. et al. Structure-activity relationship of antibacterial chalcones. **Bioorganic and Medicinal Chemistry**, v. 16, n. 22, p. 9790-9794, sep. 2008.
- AWAD, T. S. et al. Applications of ultrasound in analysis, processing and quality control of food: A review. **Food Research International**, v. 48, n. 2, p. 410-427, aug. 2012.
- AZEREDO, H.M.C. **Fundamentos de estabilidade de alimentos**, 2 ed. Brasília, DF: Técnica Embrapa, 2012. 326p.
- BADARINATH, A. V. et al. A review on In-vitro antioxidant methods: Comparisons, correlations and considerations. **International Journal of PharmTech Research**, v. 2, n. 2, p. 1276–1285, apr./jun. 2010.
- BAKA, M. et al. Photochemical treatment to improve storability of fresh strawberries. **Journal of Food Science**, v.64, p. 1068–1072, nov. 1999.
- BALASUNDRAM, N.; SUNDRAM, K.; SAMMAN, S. Phenolic compounds in plants and agri-industrial by-products: antioxidant activity, occurrence, and potential uses. **Food Chemistry**, v. 99(1), p. 191-203, jul. 2006.
- BALL, D.W. The electromagnetic spectrum: a history. **Spectroscopy**, v. 3, n. 22, p.14-17, mar. 2007.
- BARREIROS, A. L. B. S.; DAVID, J. M.; DAVID, J. P. Estresse oxidativo: Relação entre geração de espécies reativas e defesa do

organismo. **Química Nova**, São Paulo, v.29, n.1, p. 113-23, jan./ fev. 2006.

BASTOS, E.M.A.F. et al. Indicadores físico-químicos e atividade antibacteriana de própolis marrom frente à *Escherichia coli*. **Arq. Bras. Med. Vet. Zootec**, v.63, n.5 p. 1255- 1259, oct. 2011.

BATISTA, F.O. **Estudo da influência das doses de uvc nas propriedades físico químicas, sensorial instrumental e microbiológica de morangos (*fragaria x ananassa duch.*)**. 2017. 72f. Dissertação (Mestrado em Engenharia de Alimentos) - Departamento de Engenharia Química e Engenharia de Alimentos, Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis, 2017.

BAUER, A. W. et al. Antibiotic susceptibility testing by a standardized single disk method. **American journal of clinical pathology**, v. 45, n. 4, p. 493–6, abr. 1966.

BINTSIS, T.; LITOPOULOU-TZANETAKI, E.; ROBINSON, R. Existing and potential applications of ultraviolet light in the food industry – a critical review. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, v. 80, n. 6, p. 637–645, apr. 2000.

BISCAIA, D.; FERREIRA, S.R.S. Propolis extracts obtained by low pressure methods and supercritical fluid extraction. **Journal of Supercritical Fluids**, v. 51, p. 17–23, 2009.

BOILEAU, T.W.M.; BOILEAU, A.C.; ERDMAN J.W. Bioavailability of all-trans and cis isomers of lycopene. **Exp. Biol. Med.**, v. 227, n.10, p. 914–919, 2002.

BRAMLEY, P.M. Is lycopene beneficial to human health. **Phytochemistry**, v. 54, p. 233-236, jun. 2000.

BRAVO, S. et al. The influence of UV-C hormesis on lycopene, β -carotene, and phenolic content and antioxidant activity of breaker tomatoes. **Food Research International**, v.49, p. 296–302, nov. 2012.

BUCKIN, V.; O'DRISCOLL, B.; SMYTH, C. Ultrasonic spectroscopy for material analysis: recent advances. **Spectrosc. Eur.**, v.15, p.20–25, 2003.

BURT, S. Essential oils: Their antibacterial properties and potential applications in foods - A review. **International Journal of Food Microbiology**, v. 94, n. 3, p. 223–253, aug. 2004.

CAETANO, A. C. S. **Potencial antioxidante de extratos de resíduos de acerolas (*Malpighia Emarginata* D. C.) em diferentes sistemas modelos e na estabilidade oxidativa do óleo de soja**. 2009. 113 f. Dissertação (Mestrado em Ciência e Tecnologia de Alimentos) - Universidade Federal Rural de Pernambuco, Recife, 2009.

CAMPOS, L. M. A. S., LEIMANN, F. V., PEDROSA, R. C., FERREIRA, S. R. S. Free radical scavenging of grape pomace extracts from Cabernet sauvignon (*Vitis vinifera*). *Bioresource. Technology*, v. 99, p. 8413-8420, 2008.

CANO, A.; ACOSTA, M.; ARNAO, M. Hydrophilic and lipophilic antioxidant activity changes during on-vine ripening of tomatoes (*Lycopersicon esculentum* mil). **Postharvest Biology and Technology**, v. 28, n. 1, p. 59-65, apr. 2003.

CÁRCEL J.A. et al. Food process innovation through new technologies: Use of ultrasound. **Journal of Food Engineering**, v.110, p. 200–207, may. 2012.

CARVALHO, M.C.M.S.S. **Estudo da evolução de carotenos e de açúcares em tomate cereja**. (2012). 108 f. Dissertação (Mestrado em Biotecnologia) – Departamento de Química, Universidade do Aveiro, Aveiro. 2012.

CERIELLO, A.; MOTZ, E. Is Oxidative Stress the Pathogenic Mechanism Underlying Insulin Resistance, Diabetes, and Cardiovascular Disease? The Common Soil Hypothesis Revisited. **Arterioscler Thromb Vasc Biol**, v. 24, n. 5, p. 816-823, may. 2004.

CERNISEV, S. Effects of conventional and multistage drying processing on nonenzymatic browning in tomato. **Journal of Food Engineering**, v. 96, n.1, p. 114–118, jan. 2010.

CHANG, J.C.H. et al. UV inactivation of pathogenic and indicator microorganisms. **Applied and Environmental Microbiology**, v.49, p. 1361–1365, jul. 1985.

CHARLES, M. T.; TANO, K.; ASSELIN, A.; ARUL, J. Physiological basis of UV-C induced resistance to Botrytis cinerea in tomato fruit. V. Constitutive defence enzymes and inducible pathogenesis-related proteins. **Postharvest Biology and Technology**, v.51, p. 414-424, mar. 2009.

CHEW, K. K. et al. Effect of ethanol concentration, extraction time and extraction temperature on the recovery of phenolic compounds and antioxidant capacity of Orthosiphon stamineus extracts. **International Food Research Journal**, v.18 n. 4, p. 1427-1435, 2011.

CIOLA, Remolo. **Fundamentos da Cromatografia a Líquido de Alto Desempenho**. 1 ed. São Paulo: Edgard Blücher Ltda. 1998. 192 p.

CRUZ, P. N. et al. Antioxidant and antibacterial potential of butia (*Butia catarinensis*) seed extracts obtained by supercritical fluid extraction. **The Journal of Supercritical Fluids**, v. 119, p. 229–237, 2017.

COTE, S. et al. Effect of radiation intensity on the outcome of postharvest UV-C treatment. **Postharvest Biology and Technology**, v. 83, 83–89, mar. 2013.

COZZOLINO S.M.F. **Biodisponibilidade de nutrientes**. In: Fatores que interferem na biodisponibilidade de vitamina A e carotenóides. 1º ed. São Paulo: Manole; 2005. p.229-36.

CUCHEVAL, A.; CHOW, R. C. Y. A study on the emulsion of oil by power ultrasound. **Ultrasonics Sonochemistry**, v.15, p. 916-92, jul. 2008.

PROHENS, Jaime.; NUEZ, Fernando.; CARENA, Marcelo. **Handbook of plant breeding: Vegetables II**, v.8, New York: Springer, 2008. 364 p.

DI MASCIO, P.; KAISER, S.; SIES, H. Lycopene as the most efficient biological carotenoid singlet oxygen quencher. **Archives of Biochemistry and Biophysics**, v. 274, p. 532–538, nov. 1989.

DUARTE, M. C. T.; LEME, E. E.; DELARMELINA, C.; SOARES, A. A., FIGUEIRA, G. M., SARTORATTO, A. Activity of essential oils from Brazilian medicinal plants on *Escherichia coli*. *Journal of Ethnopharmacology*, v. 111, p. 197-201, 2007.

DOLATOWSKI, Z.J.; STADNIK, J. STASIAK, D. Aplicações de ultrassom em tecnologia de alimentos. *Acta Sci. Pol., Technol. Aliment.* v.6, p. 89-99, jan./mar. 2007.

EH, A. L.S.; TEOH, S.G. Novel modified ultrasonication technique for the extraction of lycopene from tomatoes. *Ultrasonics Sonochemistry*, v. 19, n.1, p. 151-159, jan. 2012.

EMBRAPA. Empresa Brasileira de pesquisa Agropecuária. **Determinação de Betacaroteno e Licopeno em Frutas e Hortaliças por Cromatografia Líquida de Alta Eficiência (Clae)**. Petrolina: EMBRAPA, 2015. Disponível em: <<https://www.embrapa.br/semiarido/busca-de-publicacoes/-/publicacao/1042355/determinacao-de-betacaroteno-e-licopeno-em-frutas-e-hortalicas-por-cromatografia-liquida-de-alta-eficiencia-clae>>. Acesso em: 22 janeiro 17.

ERKAN, M.; WANG, S. Y.; WANG, C. Y. Effect of UV treatment on antioxidant capacity, antioxidant enzyme and decay in strawberries fruit. *Postharvest Biology and Technology*, v. 48, p. 163-171, may. 2008.

FARNSWORTH, N.R. et al. Medicinal plants in therapy. *Bulletin of the World Health Organization*. v.63, n. 6, p. 965 -981, 1985.

FANG, Y. Z.; YANG, S.; WU, G. W. Free radicals, antioxidants, and nutrition. *Nutrition, Nova York*, v.18, n. 10, p.872-879, out. 2002.

FENG, S. et al. Ultrasonic-assisted extraction and purification of phenolic compounds from sugarcane (*Saccharum officinarum* L.) rinds. *LWT-Food Science and Technology*, v. 60, n. 2, p. 970-976, mar. 2015.

FERNANDES, F. A. N.; GALLÃO, M.I.; RODRIGUES, S. Effect of osmotic dehydration and ultrasound pre-treatment on cell structure:

Melon dehydration. **LWT - Food Science and Technology**, v.41, p.604-610, may. 2008.

FESSENDEN, Ralph.; FESSENDEN, Joan. **Organic Chemistry**, 2. ed, Boston: Willard Grant Pres, 1982. 1069 p.

FILGUEIRA, Fernando Antônio Reis. **Novo Manual de Olericultura: agrotecnologia moderna na produção e comercialização de hortaliças**. 1. Ed, Viçosa: Editora UFV, 2000. 402 p.

FISH, W.W.; PERKINS-VEAZIE, P.; COLLINS, J.K. A quantitative assay for lycopene that utilizes reduced volumes of organic solvents. **J. Food Comp. Anal.** vol. 15, p. 309-317, jan. 2002.

FOOD AND DRUG ADMINISTRATION (FDA). Code of Federal Regulations. 2000. 21 CFR Part 179. Irradiation in the production, processing and handling of food. **Federal Register**, v.65, p. 71056–71058, 2000.

FUENTE-BLANCO, S. et al. Food drying process by power ultrasound. **Ultrasonics Sonochemistry**, v. 44, p. 523–527, 2006.

FREITAS, L. S. **Desenvolvimento de Procedimentos de Extração do Óleo de Semente de Uva e Caracterização Química dos Compostos Extraídos**. 2007. 205 f. Tese (Doutorado em Química) - Universidade Federal do Rio Grande do Sul. Porto Alegre, 2007.

GAMEIRO, A.H. et al. Modelagem e gestão das perdas no suprimento de tomates para processamento industrial. **Gestão e Produção**, v. 15, n. 1, p. 101-115, jan./abr. 2008.

GEORGE, B. et al. Antioxidants in tomato (*Lycopersicon esculentum*) as a function of genotype, **Food Chemistry**. v. 84, n. 1, 45 – 51, jan. 2004.

GEORGÉ, S. et al. Changes in the contents of carotenoids, phenolic compounds and vitamin C during technical processing and lyophilisation of red and yellow tomatoes. **Food Chemistry**, v. 124, n. 4, 1603-1611, feb. 2011.

GIOVANELLI, G. et al. Variation in antioxidant compounds of tomato during vine and post-harvest ripening. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, v. 79, n. 12, 1583–1588, sep. 1999.

GIOVANNUCCI, E. Tomatoes, tomato-based products, lycopene and cancer: review of the epidemiologic literature. **Journal National Cancer Institute**, v. 91, v.4, p. 317-331, feb. 1999.

GOMIDE, Reynaldo. Operações com sistemas sólidos granulares, in: R. Gomide. **Operações Unitárias**, vol. 1, São Paulo: Cenpro Ltda. 1980. 187 p.

GONZÁLEZ-AGUILAR, G.A. et al. Improving antioxidant capacity of fresh-cut mangoes treated with UV-C. **Journal of Food Science**, v.72, n. 3, p. 197–202, apr. 2007.

GONZALES-AGUILAR, G. A.; WANG, C.Y.; BUTA, J.G. UV-C irradiation reduces breakdown and chilling injury of peaches during cold storage. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, v. 84, n. 5, p. 415-422, feb. 2004.

GONZÁLEZ-AGUILAR, G.A. et al. Use of UV-C irradiation to prevent decay and maintain post-harvest quality of ripe “Tommy Atkins” mangoes. **International Journal of Food Science and Technology**, v.36, n. 7, p. 767–773, oct. 2001.

GOULD, W. A. **Composition of tomatoes: Tomato production, processing and quality evaluation**. Westport: Connecticut: Avi Publishing Co., 1991. p. 344-358.

GRIBOVA, N.Y. et al. Optimization of conditions for the extraction of antioxidants from solid parts of medicinal plants. **Journal of Analytical Chemistry**, v.63, n. 11, p. 1034-1037, oct. 2008.

GUAN, W.; FANB, X.; YAN, R. Effects of UV-C treatment on inactivation of *Escherichia coli* O157:H7, microbial loads, and quality of button mushrooms. **Postharvest Biology and Technology**, v. 64, n.1, p. 119-125, feb. 2012.

GUEDES, A. M. M. et al. Tecnologia de ultravioleta para preservação de alimentos. **Boletim do Centro de Pesquisa de Processamento de Alimentos**, v.27, n.1, jun. 2009.

HALLIWELL, B. Free radical and antioxidants: a personal view. **Nutrition Reviews**, v.52, n.8, p. 253-265, aug. 1994.

GUINDANI, C.; PODESTÁ, R.; BLOCK, J.M.; ROSSI, M.J.; MEZZOMO, N.; FERREIRA, S.R.S. Valorization of chia (*Salvia hispanica*) seed cake by means of supercritical fluid extraction, **Journal of Supercritical Fluids**, v. 112, p. 67–75, 2016.

HALLIWELL, B.; GUTTERIDGE, J.M.C. **Free Radicals in Biology and Medicine**. ed. 4, United Kingdom: Oxford University Press, 1998. 777 p.

HUANG, D.; OU, B.; PRIOR, R.L. The chemistry behind antioxidant capacity assays. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 53, p. 1841-1856, feb. 2005.

HUNTER, G. et al. A radial mode ultrasonic horn for the inactivation of *Escherichia coli* K12, **Ultrasonics Sonochemistry**, v.15, p.101-109, oct. 2008.

IAL, INSTITUTO ADOLFO LUTZ. **Métodos químicos e físicos para análise de alimentos**. Normas Analíticas do Instituto Adolfo Lutz, v. 1, 3ª edição. São Paulo: IMESP, 2008. p. 98-99.

JAGADEESH, S.L.; CHARLES, M.T.; GARIPEY, Y.; GOYETTE, B.; RAGHAVAN, G.S.V.; VIGNEAULT, C. Influence of post-harvest UV-C hormesis on the bioactive components of tomato during post-treatment handling. **Food and Bioprocess Technology**, v.4, n. 8, p.1463–1472, sep. 2009.

JORGE, A. **Avaliação comparativa entre processos de secagem na produção de tomate em pó**. 2014. 68f. Dissertação (Mestrado em Engenharia de produção) – Departamento de Engenharia de Produção, Universidade Tecnológica Federal do Paraná, Ponta Grossa, 2014.

KARADAG, A.; OZCELIK, B.; SANER, S. Review of methods to determine antioxidant capacities. **Food Analytical Methods**, v. 2, n. 1, p. 41–60, may. 2009.

KEYSER, M. et al. Ultraviolet radiation as a non-thermal treatment for the inactivation of microorganisms in fruit juice. **Innovative Food Science and Emerging Technologies**, v.9, n. 3, p. 348–354, jul. 2008.

KHACHIK, F. et al. Chemistry, distribution, and metabolism of tomato carotenoids and their impact on human health. **Exp Biol Med**. v.10, p. 845-851, nov. 2002.

KNOBLICH, M.; ANDERSON, B.; LATSHAW, D. Analyses of tomato peel and seed byproducts and their use as a source of carotenoids. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, v. 85, p. 1166-1170, feb. 2005.

KNORR, D. et al. Emerging technologies in food processing. **Annual Review of Food Science and Technology**, v. 2, p. 203–235, fev. 2011.

KOUTCHMA, T. N.; FORNEY, L.J.; MORARU, C.I. **Ultraviolet light in food technology: Principles and applications**. CRC Press, Boca Ranton, 2009. 278 p.

KOUTCHMA T. N.; ORLOWSKA M. Ultraviolet light for processing fruits and fruit products. In: RODRIGUES S.; FERNANDES F.A.N. **Advances in Fruit Processing Technologies**. Taylor & Francis Group, LLC; Boca Raton, 2012. 1-36 p.

LANGSETH, L. Antioxidant and their effect on health. In: SCHMIDL, M.K.; LABUZA, T.P. **Essential of functional foods**. Maryland: Aspen Publication, 2000. p. 303-317.

LEITÃO, A.M. **Alterações na composição, no potencial antioxidante e nas propriedades biológicas do suco produzido com uvas *Vitis labrusca*, cv. Bordô, tratadas com radiação UV-C**. 2012. 87 f. Tese (Doutorado em Ciência e tecnologia agroindustrial) – Faculdade de Agronomia Eliseu Maciel, Universidade Federal de Pelotas, Pelotas, 2012.

- LENUCCI, M.S. et al. Antioxidant composition in cherry and high-pigment tomato cultivars. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 54, n.7, p. 2606-2613, apr. 2006.
- LI, D.; LUO, Z. et al. ABA and UV-C effects on quality, antioxidant capacity and anthocyanin contents of strawberry fruit (*Fragaria ananassa* Duch.). **Postharvest Biology and Technology**, v. 90, p. 56-62, apr. 2014.
- LIU, J. et al. Application of ultraviolet-C light on storage rots and ripening of tomatoes. **Journal of Food Protection**, v. 56, n. 10, p. 868-872. oct. 1993.
- LIU, C. et al. Effect of post-harvest UV-C irradiation on phenolic compound content and antioxidant activity of tomato fruit during storage. **Journal of Integrative Agriculture**, v. 11, n. 1, p. 159-165, jan. 2012.
- LIU, L. et al. Effects of UV-C, red light and sun light on the carotenoid content and physical qualities of tomatoes during storage. **Food Chemistry**, v. 115, n. 2, p. 495-500, jul. 2009.
- LOPES, M.C.; STRIPARI, P.C. A cultura do tomateiro. In: GOTP, R.; TIVELLI, S.W. **Produção de hortaliças em ambiente protegido**. São Paulo: UNESP, 1998. 319p.
- LÓPEZ-MALO, A.; PALOU, E. Ultraviolet light and food preservation. In: BARBOSA-CÁNOVAS, G; TAPIA, M.S.; CANO, M.P. **Novel food processing technologies**. New York: CRC, Chap. 18, p. 427-481, 2005.
- LÓPEZ, P.; BURGOS, J. Lipoxygenase inactivation by manothermosonication: effects of sonication physical parameters, pH, KCl. Sugars, glycerol and enzyme concentration. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v.43, p.620-625, mar. 1995.
- LUGASI, A. et al. Factors influencing lycopene content of foods, and lycopene of Hungarian population. **Nutr Res**. v.23, p. 1035-1044, aug. 2003.

LUQUE-GARCÍA, J. L.; CASTRO, M. D. L. Ultrasound: a powerful tool for leaching. **Trends in Analytical Chemistry**, v. 22, p. 41-47, jan. 2003.

LUZ, L.P. **Estudo do ultra-som como técnica de extração de carvões e caracterização dos hidrocarbonetos poliaromáticos**. 1998. 98f. Dissertação (Mestrado em Química) – Departamento de Química, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, 1998.

MA, Y. et al. Phenolic compounds and antioxidant activity of extracts from ultrasonic treatment of Sastsuma mandarin (*Citrus unshiu* Marc.) peels. **Journal. Agric. Food Chem.**, v. 56, p. 5682-5690, jul. 2008.

MACHADO, M. A. R.; OLIVEIRA, G. R. M.; PORTAS, C. A. M. Tomato root distribution, yield and fruit quality under sub surface drip irrigation. **Plant and Soil**, v. 255, n.1, p.333-341, aug. 2003.

MACHLIN, L.J., BENDICH, A. Free radical tissue damage: protective role of antioxidant nutrients. **FASEB Journal, Bethesda**, v.1, n.6, p.441-445, 1987.

MAHARAJ, R. **The effect of ultraviolet radiation (UV-C) on the postharvest storage behaviour of tomato (*Lycopersicon esculentum* Mill cv Capello)**. 1995. Thesis (Ph.D. in Food Science and Technology) - Université Laval, Québec, 1995.

MASON, Timothy Jamaes; LORIMER John Phillip. **Sonochemistry: Theory, Applications and uses of Ultrassound in Chemistry**. Chichester: Ellis Horwood Limited, 1988. 252p.

MASON, T.J.; PANIWIYK, L. LORIMER J.P. The uses of ultrasound in food technology. **Ultrasonics Sonochemistry**, v.3, n.3, p.253-260, nov. 1996.

MANZOCCO, L.; DRI, A.; QUARTA, B. Polyphenoloxidase inactivation by light exposure in model systems and apple derivatives. **Innovative Food Science and Emerging Technologies**, v. 10, n. 4, p. 500-505, oct. 2009.

MCCLAIN, R.M.; BAUSCH, J. Summary of safety studies conducted with synthetic lycopene. **Regul Toxicol Pharmacol.** Vol. 37, p. 274-85, feb. 2003.

MCCOLLUM, J.P. Effects of light on the formation of carotenoids in tomato fruits. **Food Research**, v. 19, p.182-189, 1954.

MENSOR, L. L. et al. Screening of Brazilian plant extracts for antioxidant activity by the use of DPPH free radical method. **Phytotherapy research : PTR**, v. 15, n. 2, p. 127–30, mar. 2001.

MICHIELIN, E.M.Z.; SALVADOR, A.A.; C.A.S. RIEHL, C.A.S.; SMÂNIA, A.; SMÂNIA, E.F.A.; FERREIRA, S.R.S. Chemical composition and antibacterial activity of Cordia verbenaceaextracts obtained by different methods, **Bioresour. Technol.** v. 100, p. 6615-6623, 2009.

MOTHANA, R. A. A.; LINDEQUIST, U. Antimicrobial activity of some medicinal plants of the island Soqotra. **Journal of Ethnopharmacology Etnopharmacology**, v. 96, p. 177-181, jan. 2005.

NASCENTES, C.C. et al. Use of ultrasonic baths for analytical applications: A new approach for optimization conditions. **J. Braz. Chem. Soc.**, v. 12, n. 1, p. 57-63, 2001.

NELLIS, S.C. Extraction and quantification of carotenoids from dehydrated mini-tomatoes (Sweet Grape) by applying different solvents. **Braz. J. Food Technol.**, v. 20, apr. 2017.

NGUYEN, M. L.; SCHWARTZ, S. J. Lycopene: chemical and biological properties. **Food Technology**, Chicago, v. 53, n.2, p.38-45, 1999.

NIELSEN S. Suzanne. **Food Analysis**. 2. ed. Gaithersberg: Aspen Publishers. 2008. 630p.

NUNES, S. P. **Irradiação gama e UV-C na qualidade pós-colheita de mirtilo**. 2015. 94 f. Dissertação (Mestrado em Ciência dos Alimentos) – Departamento de Ciência dos Alimentos, Universidade Federal de Lavras, Lavras, 2015.

NUNES, L.I.; MERCADANTE, A.Z. Obtenção de cristais de licopeno a partir de descarte de tomate. **Cienc Tecnol Aliment**. Vol. 24, p. 440-447, mar. 2004.

OETTERER, Marília; REGIANO-DÁRCE, Marisa. A.B.; SPOTO, Marta. H.F. **Fundamentos de Ciência e Tecnologia de Alimentos**. 1. ed. São Paulo: Ed. Manole, 2006. 632p.

OLIVEIRA, V.S. **Influência do processamento em ultrassom no licopeno e vitamina E e B**. 2014. 101 f. Dissertação (Mestrado em Engenharia Química) – Departamento de Engenharia Química, Universidade Federal do Ceará, Fortaleza, 2014.

OLIVEIRA, V.S.; RODRIGUES, S.; FERNANDES, F.A.N. Effect of high power low frequency ultrasound processing on the stability of lycopene. **Ultrasonics Sonochemistry**, v. 27, p. 586-591, nov. 2015.

OLIVEIRA, D. A. **Aplicação das tecnologias supercrítica e convencionais para o Reaproveitamento dos resíduos do processamento de maracujá (*Passiflora edulis f. flavicarpa*)**. 2015.205f. Tese (Doutorado em Engenharia de Alimentos) - Departamento de Engenharia Química e Engenharia de Alimentos, Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis, 2015.

OKARTER, N. et al. Phytochemical content and antioxidant activity of six diverse varieties of whole wheat. **Food Chemistry**, v. 119, n. 1, p. 249-257, mar. 2010.

OSTROSKY, E. A. et al. Métodos para avaliação da atividade antimicrobiana e determinação da concentração mínima inibitória (CMI) de plantas medicinais. **Brazilian Journal of Pharmacognosy**, v. 18, n. 2, p. 301–307, jun. 2008.

OZSOY, N. et al. In vitro antioxidant activity of *Amaranthus lividus* L. **Food Chemistry**, v. 116, n. 4, p. 867-872, oct. 2009.

O’KENNEDY, Richard.; THORNES, R. Douglas. **Coumarins: biology, applications and mode of action**. 1. ed. New York: John Willey, 1997. 360 p.

PATARO, G. et al. The influence of post-harvest UV-C and pulsed light treatments on quality and antioxidant properties of tomato fruits during storage. **Innovative Food Science and Emerging Technologies**, v. 30, p. 103-111, aug. 2015.

PERKINS-VEAZIE, P.; COLLINS, J.K.; HOWARD, L. **Blueberry fruit response to post-harvest application of ultraviolet radiation**. *Postharvest Biology and Technology*, v.47, n. 3, p. 280-285, mar. 2008.

PESCHEL, W. et al. An industrial approach in the search of natural antioxidants from vegetable and fruit wastes. **Food Chemistry**, v. 97, p. 137-50, jul. 2006.

PICÓ, Y. Ultrassound-assisted extraction for food and environmental samples. **Trends in Analytical Chemistry**, v.43, p.84-99, feb. 2013.

PINHO L.P. et al. Composição centesimal e análise físico-química do tomate cereja cultivado em sistema orgânico e convencional. **Horticultura Brasileira**. v.26, n.2, p. 177- 182, jul-ago. 2008.

PINTO, M. F.F V. L. **Gelificação de polímeros derivados da celulose**. 2007. 76 f. Dissertação (Mestrado em Química Analítica e Controle de Qualidade) – Departamento de Química, Universidade de Aveiro, Aveiro, 2007.

PIOVESAN, N. et al. CONGRESSO BRASILEIRO DE CIÊNCIA E TECNOLOGIA DE ALIMENTOS, 25, 2016. Gramado. **Avaliação da atividade antimicrobiana de extratos de mirtilo (*Vaccinium ashei* Reade) obtidos por ultrassom**. Anais do Simpósio Internacional de Alimentos da CIGR Sessão VI. Gramado: SBCTA Regional, UFGRS, 2016.

RAFFO, A. et al. Nutritional Value of Cherry Tomatoes (*Lycopersicon esculentum* Cv. Naomi F1) Harvested at Different Ripening Stages. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**. v. 50, p. 6550-6556, sep. 2002.

RAFFO A. et al. Seasonal variations in antioxidant components of cherry tomatoes (*Lycopersicon esculentum* cv. Naomi F1). **Journal of Food Composition and Analysis**, vol. 19, p. 11-19. feb. 2006.

RAO, A.V.; SHEN, H. Effect of low dose lycopene intake on lycopene bioavailability and oxidative stress. **Nutr Res.** v.22, p. 1125-1131, oct. 2002.

RAWSON, A. et al. Effect of thermosonication on bioactive compounds in watermelon juice. **Food Research International**, v. 44, n.5, p. 1168-1173, jun. 2011.

RE, R. et al. Antioxidant Activity Applying an Improved Abts Radical Cation Decolorization Assay. **Free Radical Biology and Medicine**, v. 26, n. 9, p. 1231–1237, may. 1999.

REAY, P.F.; LANCASTER, J.E. Accumulation of anthocyanins and quercetina glycosides in ‘Gala’ and ‘Royal Gala’ apple fruit skin with UV-B-Visible irradiation: modifying effects of fruit maturity, fruit side, and temperature. **Scientia Horticulturae**, v.90, n.1, p. 57-68, oct. 2001.

REINEMANN, D.J. et al. New methods for UV treatment of milk for improved food safety and product quality. In: ANNUAL INTERNATIONAL MEETING, AMERICAN SOCIETY OF AGRICULTURAL AND BIOLOGICAL ENGINEERS, 2006, St. Joseph, Michigan, 2006, Oregon. **Paper Number** 066088. St. Joseph, MI: ASABE, 2006. p. 1-9.

RIERA, E. et al. Mass transfer enhancement in supercritical fluids extraction by means of power ultrasound. **Ultrasonics Sonochemistry**, v.11, p.241-244, jan. 2004.

RIBEIRO, C.; CANADA, J.; ALVARENGA, B. Prospects of UV radiation for application in post-harvest technology. **Emirates Journal of Food and Agriculture**, v. 24, n. 6, p. 586–597, oct. 2012.

RIBEIRO, Eliana Paula.; SERAVALLI, Elisena A.G. **Química de Alimentos**. 2.ed. São Paulo: Ed. Edgar Blücher: Instituto Mauá de Tecnologia, Mauá, 2004. 184p.

ROBERTS, C. K.; SINDHU, K. K. Oxidative stress and metabolic syndrome. **Life Sciences**, v. 84, n. 21-22, p. 705-712, may. 2009.

ROCHA, M.C. **Variabilidade fenotípica de acessos de tomate cereja sob manejo orgânico: características agronômicas, físico-químicas e sensoriais**. 2008. 178 f. Tese (Doutorado em Fitotecnia) - Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro, 2008.

RODRIGUEZ-AMAYA, D. B.; KIMURA, M.; AMAYA-FARFAN, J. **Fontes brasileiras de carotenoides: tabela brasileira de composição de carotenoides em alimentos**. Brasília: Ministério do Meio Ambiente, Secretaria de Biodiversidade e Florestas, 2008.

RODRIGUES, E.F. Hidroponia eleva o °Brix do tomate cereja. **Revista Campo e Negócios Hortifruti**. Disponível em: <
<http://www.revistacampoenegocios.com.br/hidroponia-eleva-obrix-do-tomate-cereja/>>. Acesso em: 20 de março de 2016.

RODRÍGUEZ-BURRUEZO, A. et al. “Heirloom” varieties as sources of variation for the improvement of fruit quality in greenhouse-grown tomatoes. **The Journal of Horticultural Science and Biotechnology**, v. 80, p. 453–460, may. 2005.

ROHAINE, M.; AYOUB, M. Significance of UV-C Hormesis and Its Relation to Some Phytochemicals in Ripening and Senescence Process. In: MONTANARO, G.; DICHIO, B. **Advances in Selected Plant Physiology Aspects**. InTech Published online, 2012. 388p.

ROLDÁN-GUTIÉRREZ, J.M.; LUQUE DE CASTRO, M.D. Lycopene: the need for better methods for characterization and determination, **Trends Anal. Chem.**, v. 26, n.2, p. 163 – 170, feb. 2007.

RUFINO, M. S. M. et al. Metodologia Científica : Determinação da Atividade Antioxidante Total em Frutas pela Captura do Radical Livre DPPH. **Comunicado Técnico on line**, v. 127, p. 0–3, 2007.

SARTORATTO, A.; MACHADO, A. L. M.; DELARMELINA, C.; FIGUEIRA, G. M.; DUARTE, M. C. T.; REHDER, V. L. G. Composition and antimicrobial activity of essential oils from aromatic plants used in Brazil. **Brazilian Journal of Microbiology**, v. 35, n. 4, 2004.

SCALBERT, A. Antimicrobial properties of tannins. **Phytochemistry**, v.30, p.3875-3883, may. 1991.

SCALBERT, A. et al. Dietary polyphenols and the prevention of diseases. **Critical Review in Food Science and Nutrition**, v.45, p. 287-306, apr. 2005.

SENGUL, M. Total phenolic content, antioxidant and antimicrobial activities of some medicinal plants. **Pak. J. Pharm. Sci**, v. 22, n.1, p. 102-106, jan. 2009.

SHAMI, N.J.I.; MOREIRA, E.A.M. Licopeno como agente antioxidante. **Rev Nutr.**, v.17, p. 227-236, feb. 2004.

SMANIA JR. A. et al. Antibacterial activity of steroidal compounds isolated from *Ganoderma applanatum* (Pers.) Pat. (Aphyllphoromycetidae) fruit body. **Int J Med Mushrooms**, v., n.4, p. 325-330.

SIES, H.; STAHL, W. Lycopene: A biologically important carotenoid for humans. **Biochemistry and Biophysics**, v.336, n.1, p.1-9, dec. 1996.

SIES, H., STAHL, W. Vitamins E and C, β -carotene, and other carotenoids as antioxidants. **American Journal of Clinical Nutrition**, v.62, n.6, p.1315- 1321, dec. 1995.

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

SOARES, S. E. Ácidos fenólicos como antioxidantes. **Revista de Nutrição**, v.15, n.1, p. 71-81, jan. 2002.

SORIA, A.C.; VILAMIEL, M. Effect of ultrasound on the technological properties and bioactivity of food: a review. **Trends in Food Science and Technology**, v.21, n.7, p. 323-331, jul. 2010.

STAHL, W.; SIES, H. Carotenoids: occurrence, biochemical activities, and bioavailability. In: PACKER, L.; HIRAMATSU, M.,

YOSHIKAWA, T. Antioxidant food supplements in human health. San Diego: **Academic Press**, p. 183-198, feb. 1999.

STERN, J. L. et al. Phlorotannin-protein interactions. **Journal of Chemical Ecology**, v.22, p.1887-1899, may. 1996.

STEVENS, C. et al. Induced resistance of sweet potato to Fusarium root rot by UV-C hormesis. **Crop Protection**, v.18, n. 7, p. 463-470, aug. 1999.

STEVENS, C. et al. Integration of ultraviolet (UVC) light with yeast treatment for control of postharvest storage rots of fruits and vegetables. **Biological Control**, v. 10, n. 2, p.98-103, oct. 1997.

STEVENS, C. et al. The effect of fruit orientation of postharvest commodities following low dose ultraviolet light-C treatment on host induced resistance to decay. **Crop Protection**, v. 24, n. 8, p. 756-759, aug. 2005.

STEVENS, C. et al. The germicidal and hormetic effects of UV-C light on reducing brown rot disease and yeast microflora of peaches. **Crop Protection**, v. 17, n. 1, p. 75-84, feb. 1998.

STOJANOVIC, J.; SILVA, J. L. Influence of osmotic concentration, continuous high frequency ultrasound and dehydration on antioxidants, colour and chemical properties of rabbiteye blueberries. **Food Chemistry**, v. 101, n.3, p. 898-906, dec. 2007.

SUÁREZ M.H.; RODRÍGUEZ, E.M.; ROMERO C.D. Mineral and trace element concentration in cultivars of tomatoes. **Food Chemistry**, v. 104, n. 2, p. 489-499, 2007.

SUSLICK, K.S. The Chemical Effects of Ultrasound. **Scientific American**, v.200, n.2, p.80-86, fev. 1989.

TAJKARIMI, M. M.; IBRAHIM, S. A.; CLIVER, D. O. Antimicrobial herb and spice compounds in food. **Food Control**, v. 21, n. 9, p. 1199-1218, sep. 2010.

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

TARKO, T.; DUDA-CHODAK, A.; TUSZYŃSKI, T. Simulation of Phenolic Compounds Transformations and Interactions in an In Vitro Model of the Human Alimentary Tract. **Food Science and Technology International**, v. 15, n. 3, p. 235-241, Jun. 2009.

TARLETON, E. S.; WAKEMAN, R. J. Ultrasonically assisted separation process. In **Ultrasounds in food processing**. Glasgow: Blackie Academic and Professional. p. 193–218.1998.

TAYLOR, I.B. Biosystematics of the tomato. In: ATHERTON, J.G.; RUDICH, J. **The tomato crop: a scientific basis for improvement**. New York: Chapman and hall, 1986. Cap.1, p. 1-34.

TERRAS, F. R. G. et al. Synergistic enhancement of the antifungal activity of wheat and barley thionins by radish and oilseed rape 2S albumins and by barley trypsin inhibitors. **Plant Physiology**, v.103, p.1311-1319, dec. 1993.

TIAN, F. et al. Antioxidant and antimicrobial activities of consecutive extracts from *Galla chinensis*: The polarity affects the bioactivities. **Food Chemistry**, v. 113, n. 1, v.1, p. 173–179, mar. 2009.

TIECHER, A. et al., Efeito UV-C em etileno, poliaminas e a regulação da maturação d fruto de tomate. **Postharvest Biology and Technology**, v. 86, p. 230-239, dec. 2013.

TIWARI, B. K. Anthocyanin and ascorbic acid degradation in sonicated strawberry juice. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 56, n.21, p. 10071-10077, oct. 2008.

TIWARI, B.K. Ultrassound: a clean, green extraction technology. **Trends in Analytical Chemistry**, v.71, p. 100-109, sep. 2015.

TIWARI, B. K. et al. Inactivation kinetics of pectin methylesterase and cloud retention in sonicated orange juice. **Innovative Food Science and Emerging Technologies**, v.10, p.166-171, nov. 2009.

TOMATO NEWS (2011). **Tomato consumption**. Disponível em: <<http://www.tomatonews.com/en/>>. Acesso em: 24 de setembro de 2016.

TOMÁS-BARBERÁN, F.A.; ESPÍN, J.C. Phenolic compounds and related enzymes as determinants of quality in fruits and vegetables. **Science of Food and Agriculture**. V. 81, n. 9, p. 853-876, jul. 2001.

TOMMONARO, G. et al. **Antioxidant compound studies in diferente tomato cultivars**. In. PREEDY, Victor R.; WATSON, Ronald R. *Tomatoes and Tomato Products: Nutritional, Medicinal and Therapeutic Properties*. 1 ed. Science Publishers, Enfield, United States of America (2008), p. 334–343. Jan. 2008.

TORSSEL, Kurt B.G. **Natural product chemistry. A mechanistic and biosynthetic approach to secondary metabolism**. ed. 1. New York: John Willey and Sons Ltd, 1983. 414p.

TRAN, M.T.T.; FARID, M. Ultraviolet treatment of orange juice. **Innovative Food Science and Emerging Technologies**, v.5, n.4, p.495–502, dec. 2004.

USDA, United States Department of Agriculture (2011). **National Nutrient Database for Standard Reference** - Raw tomato, 11529; catsup, 11935; tomato juice, 11540; tomato sauce, 11549; tomato soup, 06359. Disponível em: <<http://ndb.nal.usda.gov/ndb/foods/list>>. Acesso em: 23 de janeiro de 2017.

VALTUEÑA, S. et al. Food selection based on total antioxidant capacity can modify antioxidant intake, systemic inflammation, and liver function without altering markers of oxidative stress. **The American Journal of Clinical Nutrition**, v. 87, n. 5, p. 1290-1297, may. 2008.

VALKON, M. et al. Free radicals and antioxidants in normal physiological functions and human disease. **The International Journal of Biochemistry and Cell Biology**, v. 39, p. 44-84, aug. 2007.

- VERCET, A.; LOPEZ, P.; BURGOS, J. Inactivation of heat-resistant lipase and protease from *Pseudomonas fluorescens* by manothermosonication. **Dairy Science**, v.80, p.29-36, jan. 1997.
- VIEIRA, G. R. T. **Otimização das condições de cultivo de Polyporus tricholoma Mont. visando à produção de substâncias antibacterianas**. 2005. 135 f. Dissertação (Mestrado em Biotecnologia) – Departamento de microbiologia e Parasitologia, Universidade Federal de Santa Catarina, 2005.
- VIEITES, R. L. **Conservação pós-colheita do tomate através do uso da radiação gama, cera e de polietileno, armazenados em condições de refrigeração e ambiente**. 1998. 131 f. Tese (Doutorado em Ciências Agrônomicas) - Faculdade de ciências agrônômicas, Universidade Estadual Paulista, Botucatu. 1998.
- VILLAMIEL, M.; DE JONG, P. Influence of high-intensity ultrasound and heat treatment in continuous flow on fat, proteins and native enzymes of milk. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v.48, p.472-478, jul. 2000.
- VILKHU, K. et al. Applications and opportunities for ultrasound assisted extraction in the food industry - A review. **Innovative Food Science & Emerging Technologies**, v. 9, n. 2, p. 161-169, apr. 2008.
- WANG, Y. et al. Biocontrol of *Alternaria alternation* on cherry tomato fruit by use of marine yeast *Rhodospiridium paludigenum*. **International Journal of Food Microbiology**, v. 123, n.3, p.234-239, aug. 2008.
- WANG, C. Y.; CHEN, C.; WANG, S. Y. Changes of flavonoid content and antioxidant capacity in blueberries after illumination with UV-C. **Food Chemistry**, v. 117, n. 3, p. 426-431, dec. 2009.
- WARNOCK, S.J. A review of taxonomy and phylogeny of the genus *Lycopersicon*. **HortScience**, v. 23 p. 669-673, apr.1988.
- WARNOCK, S.J. Natural Habitats of *Lycopersicon* species. **HortSciene**, v. 26, n.5, p. 466-471, 1991.

WEN, B. et al. Ultrasound accelerated esterification of palmitic acid with vitamin C. **Ultrasononic Sonochemistry**, v.14, p.213-218, mar. 2007.

WPTC - World Processing Tomato Council. (2012). **The tomato processing industry worldwide**. Disponível em: <<http://www.wptc.to/researchwptc.php?PHPSESSID=907f418366e7f7a1c1e543bfbeba276>>. Acesso em: 25 de setembro de 2017.

XU, Y.; PAN, S. Effects of various factors of ultrasonic treatment on the extraction yield of all-trans-lycopene from red grapefruit (*Citrus paradise* Macf.). **Ultrasonics sonochemistry**, v. 20, n. 4, p. 1026-1032, jan. 2013.

ZHAO, Y. et al. A combination of heat treatment and *Pichia guilliermondii* prevents cherry tomato spoilage by fungi. **International Journal of Food Microbiology**, v.137, n.1, p.106-110, jan. 2010.

APÊNDICE A – EQUIPAMENTO DE EMISSÃO DE LUZ UV-C

Figura 22 - Aparato experimental utilizado para radiação UV-C.

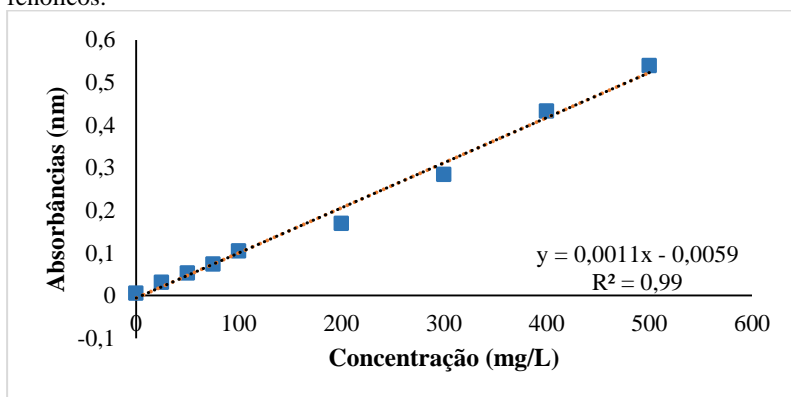


Fonte: Dados do autor (2016).

APÊNDICE B – DADOS EXPERIMENTAIS E ANALÍTICOS

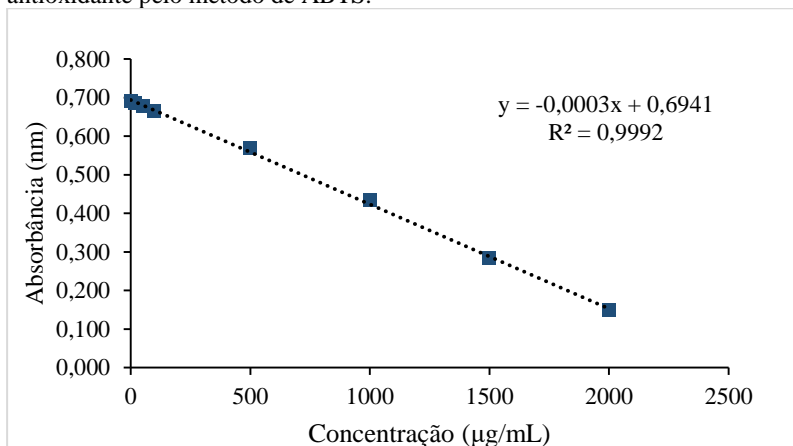
As figuras 23 e 24 apresentam respectivamente, as curvas padrões obtidas para o ácido gálico utilizado no cálculo da quantificação do teor de fenólicos totais (Item 3.9) e para quantificação da atividade antioxidante (Item 3.10.1)

Figura 23 - Curva padrão de ácido gálico utilizada no cálculo de compostos fenólicos.



Fonte: Dados do autor (2016).

Figura 24 - Curva padrão de Trolox utilizada na determinação de atividade antioxidante pelo método de ABTS.

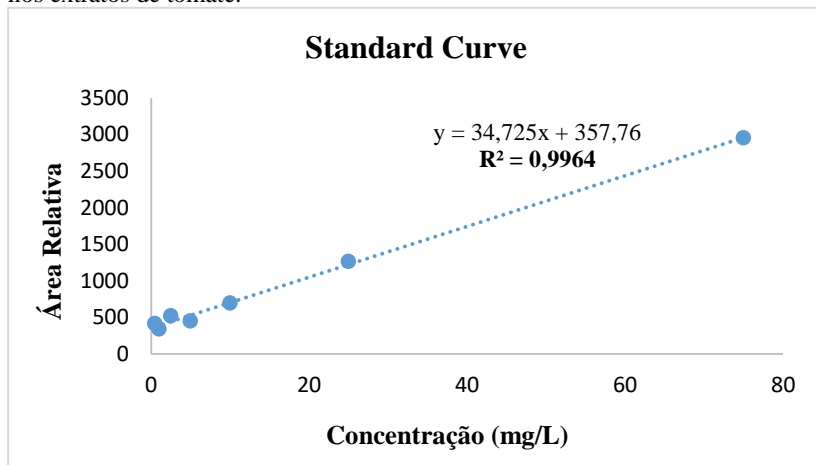


Fonte: Dados do autor (2016).

APENDICE C – DADOS CROMATOGRÁFICOS (HPLC)

A figura 25 apresenta a curva padrão para quantificação do licopeno realizado por cromatografia (Item 4.10).

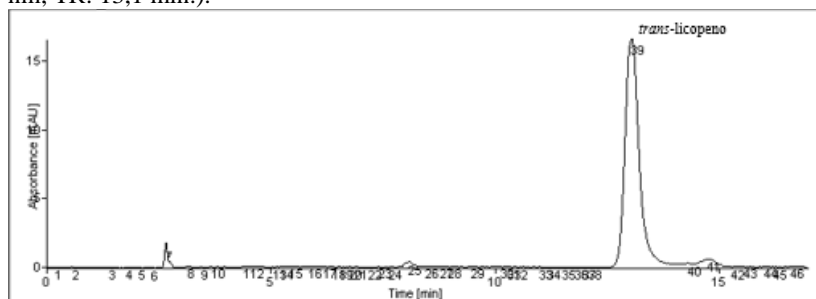
Figura 25 - Curva padrão do licopeno para quantificação do teor de licopeno nos extratos de tomate.



Fonte: Dados do autor (2017).

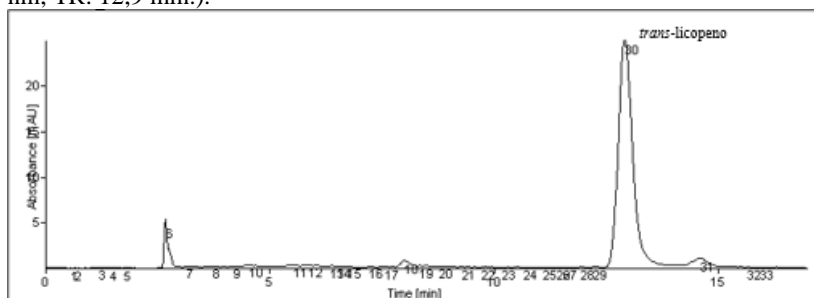
Das figuras 26 a 38 estão representados os cromatogramas das diluições do padrão de licopeno e das amostras de extrato de tomate cereja analisadas por cromatografia líquida de alta eficiência.

Figura 26 - Cromatograma do padrão de licopeno (pureza $\geq 90\%$) para diluição de 1,0 mg/L, com identificação do carotenoide *trans*-licopeno (leitura em 472 nm; TR: 13,1 min.).



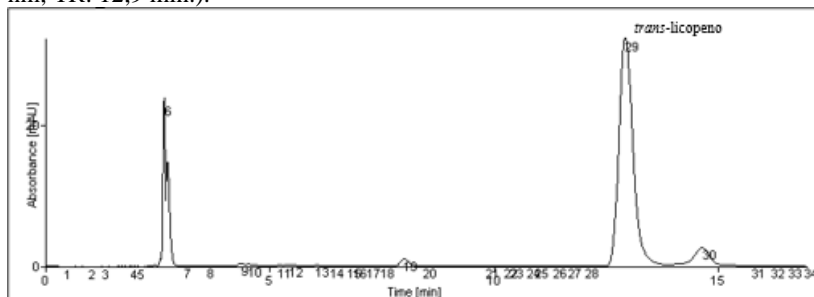
Fonte: Dados do autor (2017).

Figura 27 - Cromatograma do padrão de licopeno (pureza $\geq 90\%$) para diluição de 2,5 mg/L, com identificação do carotenoide *trans*-licopeno (leitura em 472 nm; TR: 12,9 min.).



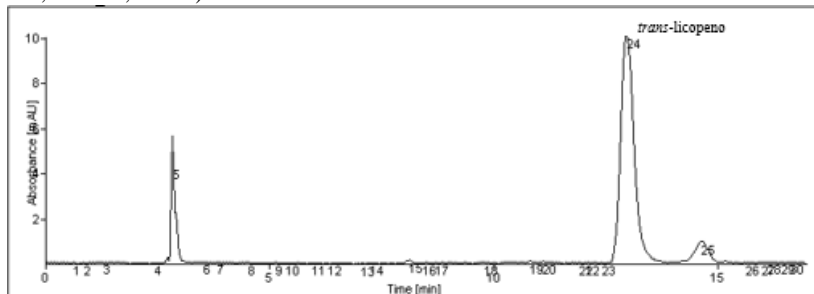
Fonte: Dados do autor (2017).

Figura 28 - Cromatograma do padrão de licopeno (pureza $\geq 90\%$) para diluição de 5,0 mg/L, com identificação do carotenoide *trans*-licopeno (leitura em 472 nm; TR: 12,9 min.).



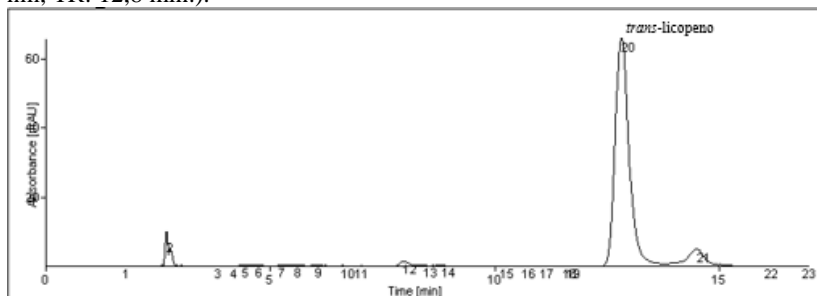
Fonte: Dados do autor (2017).

Figura 29 - Cromatograma do padrão de licopeno (pureza $\geq 90\%$) para diluição de 10 mg/L, com identificação do carotenoide *trans*-licopeno (leitura em 472 nm; TR: 12,7 min.).



Fonte: Dados do autor (2017).

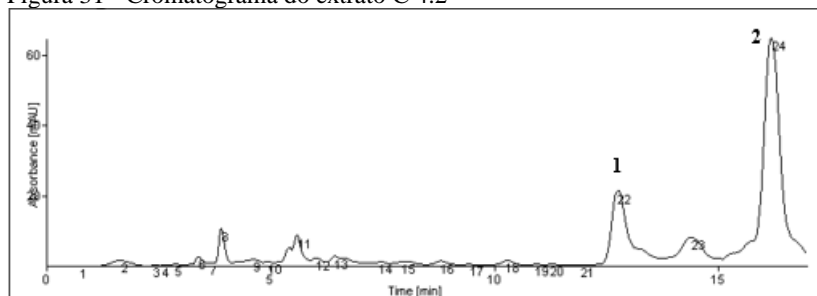
Figura 30 - Cromatograma do padrão de licopeno (pureza $\geq 90\%$) para diluição de 25 mg/L, com identificação do carotenoide *trans*-licopeno (leitura em 472 nm; TR: 12,8 min.).



Fonte: Dados do autor (2017).

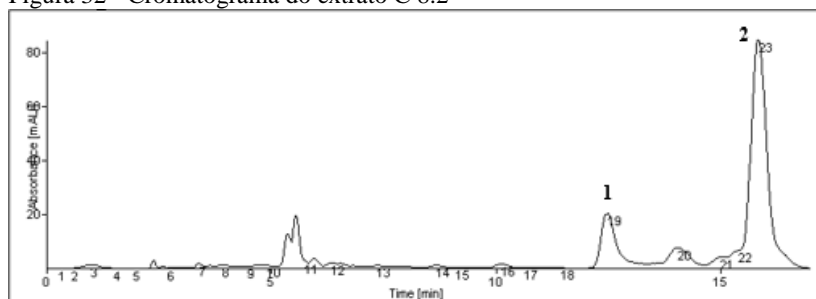
Nas figuras 31 a 38 estão representados os cromatogramas típicos de HPLC dos demais extratos de tomate cereja, não apresentados no Item 4.10. Os picos (1) são referentes a identificação do *trans*-licopeno, já os picos (2) representam o provável isômero *cis*-licopeno, decorrente da isomerização do carotenoide majoritário (1). Os comprimentos de onda e tempos de retenção e a quantificação de todos os picos (1) estão apresentados na Tabela 21.

Figura 31 - Cromatograma do extrato C 4.2



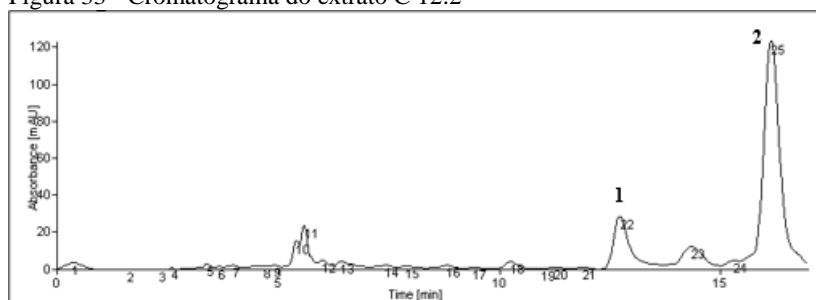
Fonte: Dados do autor (2017).

Figura 32 - Cromatograma do extrato C 8.2



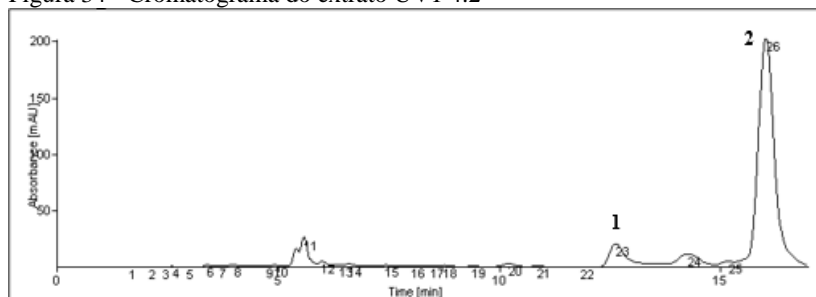
Fonte: Dados do autor (2017).

Figura 33 - Cromatograma do extrato C 12.2



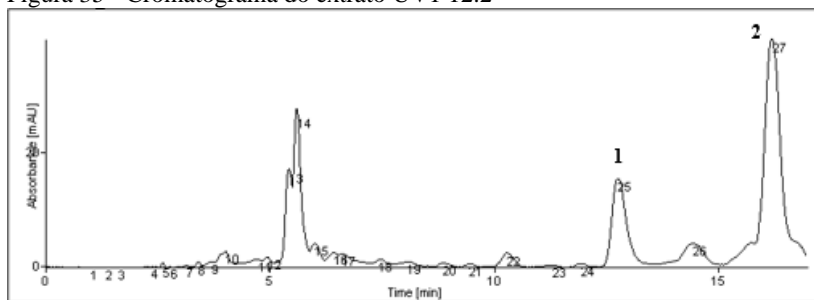
Fonte: Dados do autor (2017).

Figura 34 - Cromatograma do extrato UV1 4.2



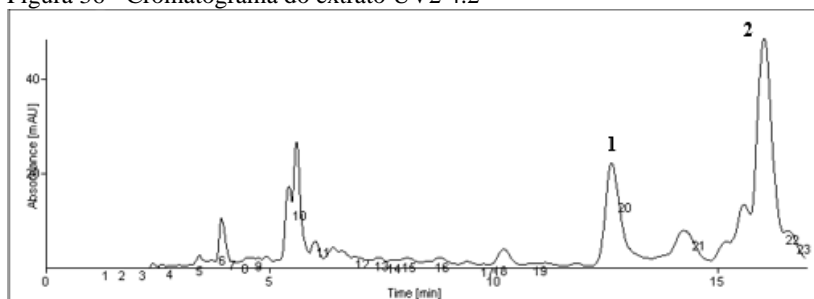
Fonte: Dados do autor (2017).

Figura 35 - Cromatograma do extrato UV1 12.2



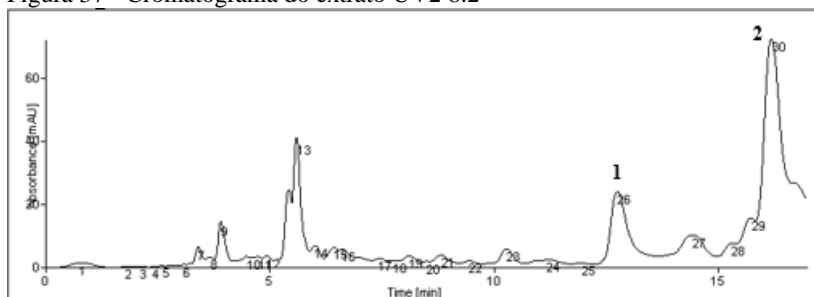
Fonte: Dados do autor (2017).

Figura 36 - Cromatograma do extrato UV2 4.2



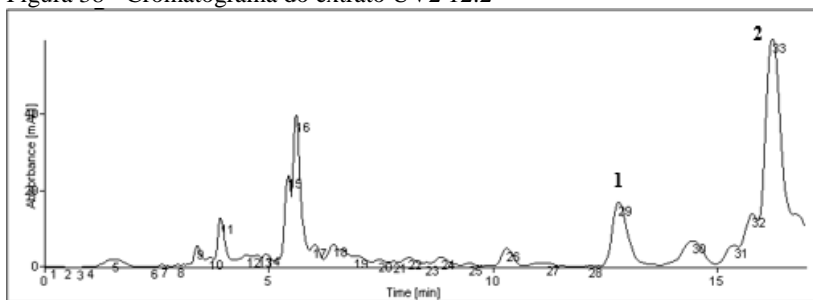
Fonte: Dados do autor (2017).

Figura 37 - Cromatograma do extrato UV2 8.2



Fonte: Dados do autor (2017).

Figura 38 - Cromatograma do extrato UV2 12.2



Fonte: Dados do autor (2017).