Universidade de São Paulo
Faculdade de Saúde Pública

**Avaliação do potencial antioxidante e de algumas
características físico-químicas do tomate
(*Lycopersicon esculentum*) orgânico em comparação
ao convencional**

Renata Galhardo Borguini

Tese apresentada ao Programa de Pós-
Graduação em Saúde Pública para obtenção
do título de Doutor em Saúde Pública.

Área de Concentração: Nutrição

Orientadora: Profa. Dra. Elizabeth A. F. da
Silva Torres

São Paulo

2006

**Avaliação do potencial antioxidante e de algumas
características físico-químicas do tomate
(*Lycopersicon esculentum*) orgânico em comparação
ao convencional**

Renata Galhardo Borguini

Tese apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Saúde Pública da Faculdade de Saúde Pública da Universidade de São Paulo para obtenção do título de Doutor em Saúde Pública.

Área de Concentração: Nutrição

Orientadora: Profa. Dra. Elizabeth A. F. da Silva Torres

São Paulo

2006

Autorizo exclusivamente para fins acadêmicos e científicos, a reprodução total ou parcial desta tese, por processos fotocopiadores.

Assinatura:

Data:

À sociedade brasileira,
por todos os anos de formação em Universidade Pública.

OFEREÇO

Aos meus queridos pais Carlos e Teresa
e à minha querida irmã Milena.

DEDICO

AGRADECIMENTOS

À Faculdade de Saúde Pública da Universidade de São Paulo pela oportunidade;

Ao Departamento de Nutrição por toda a estrutura e assistência necessárias à realização desse trabalho;

À CAPES (Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior) pela bolsa de estudos concedida;

À FAPESP (Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo) pelo apoio financeiro ao projeto concedido na forma de Auxílio à Pesquisa - Processo nº 03/05651-8.

À APTA (Agência Paulista de Tecnologia dos Agronegócios) pela oportunidade;

À profa. Dra. Elizabeth A. Ferraz da Silva Torres pela orientação e apoio para a realização deste trabalho;

À profa. Dra. Deborah Helena M. Bastos por toda a cooperação e atenção em todas as etapas deste trabalho;

À profa. Dra. Dulcinéia Abdalla pelas contribuições ao trabalho durante o exame de qualificação;

À profa. Dra. Marina Vieira da Silva pelas contribuições ao trabalho e, especialmente, pela amizade e estímulo desde o curso de mestrado;

Ao prof. Dr. Jaime Amaya Farfan pelas contribuições indispensáveis para o aprimoramento do trabalho;

À profa. Dra. Carmen Cecília Tadini pela minuciosa correção e contribuições ao trabalho;

Aos professores e alunos do CEA (Centro de Estatística Aplicada) do IME (Instituto de Matemática e Estatística) da USP pela atenção dispensada no delineamento do experimento e na análise dos resultados;

Ao prof. Dr. José Alfredo Gomes Areas por permitir a utilização de diversos equipamentos do Laboratório de Propriedades Funcionais do Depto. de Nutrição da FSP. Agradeço especialmente a Carol Conti por seu auxílio durante o uso do colorímetro;

Ao prof. Dr. Ronaldo Nogueira de Moraes Pitombo da Faculdade de Ciências Farmacêuticas da USP por permitir o uso do liofilizador. Agradeço também ao funcionário Gledson, por sua atenção e disposição durante a liofilização das amostras;

Aos funcionários e funcionárias da Faculdade de Saúde Pública e do Departamento de Nutrição. Meu agradecimento especial à Rosana A. M. Soares pelos auxílios prestados, pela amizade e agradável convivência no laboratório;

À estagiária de iniciação científica Fernanda Sobral pela grande disposição e auxílio durante a realização de todas as análises;

Às estagiárias de iniciação científica Susie Tiemi e Mônica P. de Lima pelo auxílio durante a realização dos pré-testes e de parte das análises laboratoriais;

Aos colegas de curso Carla Carolina, Yara, Liania, Carol Conti, Maria Carol, Simone, René, Áurea, Geni, Emília, Maria e Guilherme pela grande amizade, agradável convívio e paciência em todos os momentos;

À Yara Severino Queiroz pela amizade, pelo auxílio nas análises dos dados e pela disposição em ajudar em diversos momentos;

Às colegas de trabalho Èrica Weinstein Teixeira, Maria Luiza T. M. F. Alves, Carmen Lúcia P. Monteiro pela paciência e apoio dispensados;

Ao Dr. Marcos Vinícius G. Barbosa da Silva pelas contribuições relativas às análises estatísticas;

Às colegas de doutorado da Faculdade de Ciências Farmacêuticas da USP Fabiana Araújo e Lourdes Giarda pelas contribuições e atenção dedicada em diversos momentos de dúvida;

À minha grande e maravilhosa família pelo carinho, dedicação e estímulo;

Ao Cristiano dos Reis Souza pelo agradável convívio, carinho, estímulo e paciência em quase todo o decorrer do curso de doutorado;

À todos que ajudaram de alguma forma meus sinceros agradecimentos.

RESUMO

Objetivo: O principal objetivo desta pesquisa foi comparar os efeitos dos cultivos orgânico e convencional sobre as características físico-químicas, o teor de compostos antioxidantes, a atividade antioxidante e os resíduos de pesticidas de tomates cultivar Carmem. Considerando-se que o preparo doméstico de alimentos exerce efeitos expressivos sobre o nível de nutrientes em relação ao alimento *in natura*, particularmente no que tange ao teor de compostos antioxidantes e, conseqüentemente, na atividade antioxidante destes compostos, verificou-se também a influência de diversas formas de preparo doméstico para o consumo de tomates.

Métodos: Os tomates foram submetidos aos seguintes tratamentos: inteiro, sem pele, sem semente, molho e purê de tomate. As amostras foram avaliadas físico-quimicamente quanto à atividade de água, sólidos solúveis totais, umidade, pH, cor, teor de ácido ascórbico, de fenólicos totais e de licopeno. As amostras foram liofilizadas e, posteriormente, submetidas ao processo de extração seqüencial para frutos, dando origem aos extratos etéreo, etanólico e aquoso. Aos extratos foram aplicados o teste do 1,1-difenil-2-picrilhidrazil (DPPH) e o sistema β -caroteno/ácido linoléico para avaliação da atividade antioxidante *in vitro*. As amostras foram ainda submetidas à análise multirresíduos de pesticidas. Para análise estatística dos resultados utilizou-se análise univariada e o teste de Tukey, adotando-se um nível de significância de 5%.

Resultados: O tomate orgânico inteiro e o molho apresentaram teores médios de ácido ascórbico maiores que seus similares convencionais. O tomate orgânico apresentou teor médio de fenólicos maior que o tomate convencional, para todos os produtos e preparações. Não foi possível identificar diferença entre orgânicos e convencionais quanto ao teor de licopeno, para todas as preparações e produtos avaliados. Para o extrato etéreo pelo método DPPH, verificou-se que apenas para o tomate sem semente, o orgânico apresentou atividade antioxidante maior que o convencional. Para o extrato alcoólico pelo método DPPH, apenas para o tomate sem semente não foram observadas diferenças entre orgânico e convencional. Para as demais preparações e produtos, o tomate orgânico apresentou percentual maior de atividade antioxidante que o convencional. No caso do extrato aquoso, apenas o tomate inteiro e o molho orgânico e convencional não apresentaram

diferenças, para os demais modos de preparo (sem pele, sem semente e purê) o tomate orgânico apresentou percentual médio de atividade antioxidante maior que o tomate convencional. Para o extrato etéreo pelo sistema β -caroteno/ácido linoléico, quando se comparou cultivo orgânico e convencional, observou-se que a atividade antioxidante do molho convencional foi maior que do molho orgânico. No entanto, para os tomates sem pele e sem semente, o orgânico apresentou valores médios significativamente maiores que aqueles obtidos para o tomate convencional. Para o extrato alcoólico pelo sistema β -caroteno/ácido linoléico, não foram encontradas diferenças quando se compararam as preparações e os produtos provenientes do cultivo orgânico e convencional. No caso do extrato aquoso, o tomate orgânico apresentou maior média de atividade antioxidante para todos os modos de preparo, exceto para o molho. A forma de cultivo foi um fator determinante em relação à presença de resíduos de pesticidas (permetrina, tebuconazol e ditiocarbamatos), uma vez que o tomate orgânico preparado de diversas formas não apresentou tais resíduos. **Conclusões:** Devido ao limitado tamanho da amostra, nenhuma generalização pode ser estabelecida em relação ao tipo de cultivo e o valor nutricional dos tomates. No entanto, a partir dos resultados dos lotes de tomate avaliados, para a maioria dos parâmetros adotados, pode-se observar superioridade para o tomate orgânico em relação ao convencional.

Descritores: tomate; alimentos orgânicos; atividade antioxidante; resíduos de pesticidas.

SUMMARY

Objective: The main objective of this survey was to compare the cultivation effect (organic and conventional) over the physical-chemical characteristics, the content of antioxidant compounds and the antioxidant activity of tomatoes Carmen cultivar. Considering that home preparation of the food may be a significant effect over the level of nutrients in relation to a fresh food, particularly in the content of antioxidants and, consequently, in the antioxidant activity of these compounds, the influence of many ways of home prepare of tomatoes was verified. **Methods:** Tomatoes underwent the following treatments: whole fresh tomatoes, fresh tomatoes without the peel, fresh tomatoes without seeds, tomato sauce and tomato puree. Samples were physical-chemically analyzed for water activity, total soluble solids, water content, pH, color, ascorbic acid, total phenolics and lycopene. Samples were freeze-dried, and then underwent the sequential extraction process for fruits, resulting in ether, alcohol and water extracts. These extracts were tested by DPPH test and the β -carotene/linoleic acid system in order to evaluate the *in vitro* antioxidant activity. Samples were also submitted to pesticide multi residue analysis. For the statistical analyses, ANOVA and the Tukey test were used considering a significance level of 5%. **Results:** The whole organic tomato and the organic sauce presented higher acid ascorbic content than their conventional counterparts. The organic tomato exhibited higher phenolics content than the conventional for all products and preparations. It was not possible to detect differences between organic and conventional in relation to the lycopene content form all preparations and products. For the ether extracts by the DPPH method, it was verified that only the organic tomato without seeds showed higher antioxidant activity than the conventional one. For the alcohol extract by the DPPH method, only the tomato without seeds not reveal differences between organic and conventional. The remaining organic preparations and products were better than the conventional. In the case of the water extract, only the whole tomato and the sauce did not show differences between the organic and the conventional, whereas the other preparations of the organic tomato exhibited higher antioxidant activity than those of the conventional tomato. For the ether extract in the β -carotene/linoleic acid system it was verified that the conventional sauce was better than the organic

one. However, the organic tomatoes without peel and seeds exhibited higher antioxidant activity than the conventional ones. For the alcohol extract in the β -carotene/linoleic acid system no difference was detected between the organic and conventional tomato preparations and products. In the case of the water extract, the organic tomato afforded higher antioxidant activity for all types of preparations, except for the sauce. The method of cultivation was a determinant factor in relation to the presence of pesticides residues, since the organic tomato prepared in different forms did not contain these residues (permethrin, tebuconazol and dithiocarbamate).

Conclusions: Due the limited size of the sample, no general statement could be made in relation to the method of cultivation and the nutritive value of tomatoes. However, for most of the parameter studied, the organically grown tomatoes ranked higher than the conventional tomatoes.

Descriptors: tomato; organic food; antioxidant activity; pesticides residue.

LISTA DE ABREVIATURAS

ABTS - ácido 2-2'-azino-bis (3-etilbenzotiazolin) 6-sulfônico

Aw – atividade de água

BHT – butil-hidroxi-tolueno

DPPH - 1,1-difenil-2-picrilhidrazil

EAG – equivalente de ácido gálico

EROs – espécies reativas de oxigênio

HDL – *high density lipoprotein*

HPLC – *high performance liquid chromatography*

IDA – ingestão diária aceitável

LDL – *low density lipoprotein*

LMR – limite máximo de resíduo

pH – potencial hidrogeniônico

SST – sólidos solúveis totais

TBHQ - terci-butil-hidroxiquinona

VLDL – *very low density lipoprotein*

LISTA DE TABELAS

Página

Tabela 1 Características físico-químicas do tomate <i>in natura</i> cultivar Carmem produzido por cultivo orgânico e convencional.....	65
Tabela 2 Atividade de água (Aw) dos diferentes tipos de preparações e produtos de tomate obtidos por cultivo convencional e orgânico.....	66
Tabela 3 Teor de sólidos solúveis totais (°Brix) dos diferentes tipos de preparações e produtos de tomate obtidos por cultivo convencional e orgânico.....	67
Tabela 4 Teor de umidade, expresso em percentagem (%) de água, dos diferentes tipos de preparações e produtos de tomate obtidos por cultivo convencional e orgânico.....	70
Tabela 5 Valores médios de pH dos diferentes tipos de preparações e produtos de tomate obtidos por cultivo convencional e orgânico.....	72
Tabela 6 Valores médios para o ângulo de cor (°h) dos diferentes tipos de preparações e produtos de tomate obtidos por cultivo convencional e orgânico.....	74
Tabela 7 Teor de ácido ascórbico (mg/100g em base úmida) dos diferentes tipos de preparações e produtos de tomate obtidos por cultivo convencional e orgânico.....	78
Tabela 8 Teor de fenólicos totais, expresso em mg de equivalente de ácido gálico (EAG) por 100g de amostra (base úmida), dos diferentes tipos de preparações e produtos de tomate obtidos por cultivo convencional e orgânico.....	82
Tabela 9 Teor de licopeno (mg/100g em base úmida) dos diferentes tipos de preparações e produtos de tomate obtidos por cultivo convencional e orgânico.....	86
Tabela 10 Teor de resíduo seco expresso em mg/mL de extrato etéreo obtido a partir de diferentes tipos de preparações e produtos de tomate provenientes do cultivo orgânico e convencional.....	95
Tabela 11 Teor de resíduo seco (mg/mL) e fenólicos totais (mg/mL em EAG) do extrato alcoólico obtido a partir de diferentes tipos de preparações	

e produtos de tomate provenientes do cultivo orgânico e convencional.	96
Tabela 12 Teor de resíduo seco (mg/mL), fenólicos totais (mg/mL em EAG) e ácido ascórbico (mg/mL) do extrato aquoso obtido a partir de diferentes tipos de preparações e produtos de tomate provenientes do cultivo orgânico e convencional.....	97
Tabela 13 Atividade antioxidante (% de descoloração do DPPH) do extrato etéreo (concentrações 0,1 e 0,2 mg/mL) obtido a partir de diferentes tipos de preparações e produtos de tomate provenientes de cultivo convencional e orgânico.....	101
Tabela 14 Atividade antioxidante (% de descoloração do DPPH) do extrato alcoólico (concentrações 0,1 e 0,2 mg/mL) obtido a partir de diferentes tipos de preparações e produtos de tomate provenientes de cultivo convencional e orgânico.....	106
Tabela 15 Atividade antioxidante (% de descoloração do DPPH) do extrato aquoso (concentrações 0,1 e 0,2 mg/mL) obtido a partir de diferentes tipos de preparações e produtos de tomate provenientes de cultivo convencional e orgânico.....	108
Tabela 16 Atividade antioxidante (% de inibição da oxidação lipídica) do extrato etéreo (concentrações $1,25 \times 10^{-2}$ e $2,5 \times 10^{-2}$ mg/mL) obtido a partir de diferentes tipos de preparações e produtos de tomate provenientes de cultivo convencional e orgânico.....	114
Tabela 17 Atividade antioxidante (% de inibição da oxidação lipídica) do extrato alcoólico (concentração 0,5 e 1,0 mg/mL) obtido a partir de diferentes tipos de preparações e produtos de tomate provenientes de cultivo convencional e orgânico.....	116
Tabela 18 Atividade antioxidante (% de inibição da oxidação lipídica) do extrato aquoso (concentração 0,5 e 1,0 mg/mL) obtido a partir de diferentes tipos de preparações e produtos de tomate provenientes de cultivo convencional e orgânico.....	118
Tabela 19 Teor de resíduos de pesticidas em tomates produzidos convencionalmente.....	126

ÍNDICE

	Página
1 INTRODUÇÃO.....	1
2 OBJETIVOS.....	4
2.1 Objetivo geral.....	4
2.2 Objetivos específicos.....	4
3 REVISÃO DE LITERATURA.....	5
3.1 Oxidação lipídica, espécies reativas de oxigênio e consequências biológicas...	5
3.2 O papel dos antioxidantes.....	9
3.3 Alimentos e seus benefícios à saúde.....	10
3.4 Tomate como fonte de antioxidantes.....	12
3.4.1 Carotenóides.....	13
3.4.1.1 Licopeno.....	14
3.4.1.2 Biodisponibilidade do licopeno.....	16
3.4.1.3 Efeitos do licopeno sobre a saúde humana.....	18
3.4.2 Compostos fenólicos.....	21
3.4.2.1 Flavonóides.....	23
3.4.2.2 Ácidos fenólicos.....	25
3.4.3 Ácido ascórbico.....	26
3.5 Consequências do processamento no potencial antioxidante dos alimentos.....	30
3.6 Considerações sobre os métodos analíticos.....	35
3.6.1 Métodos para a quantificação de compostos antioxidantes.....	35
3.6.2 Avaliação da atividade antioxidante.....	35
3.6.2.1 Preparo das amostras.....	35
3.6.2.2 Métodos para avaliação <i>in vitro</i> da atividade antioxidante.....	36
3.7 Alimentos orgânicos.....	39
3.7.1 Comparação entre o valor nutritivo de alimentos orgânicos e convencionais..	42
3.8 Resíduo de pesticidas em alimentos.....	45

4 MATERIAL E MÉTODOS.....	51
4.1 Material.....	51
4.2 Preparo das amostras.....	52
4.2.1 Preparações.....	52
4.2.2 Produtos.....	53
4.3 Análises físico-químicas.....	53
4.4 Liofilização das amostras.....	57
4.5 Obtenção dos extratos.....	57
4.5.1 Determinação do teor de resíduo seco dos extratos.....	59
4.5.2 Determinação do teor de compostos antioxidantes nos extratos.....	59
4.6 Testes de Atividade Antioxidante <i>in vitro</i>	59
4.7 Análise de resíduos de pesticidas.....	62
4.8 Análise dos resultados.....	63
5. RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	64
5.1 Caracterização das amostras.....	64
5.1.1 Análises físico-químicas.....	65
5.1.1.1 Atividade de água.....	66
5.1.1.2 Sólidos solúveis totais.....	67
5.1.1.3 Umidade.....	69
5.1.1.4 Potencial hidrogeniônico (pH).....	71
5.1.1.5 Cor.....	73
5.1.2 Compostos Antioxidantes.....	77
5.1.2.1 Ácido ascórbico.....	77
5.1.2.2 Compostos fenólicos.....	82
5.1.2.3 Licopeno.....	86
5.2 Caracterização dos extratos.....	93
5.3 Atividade Antioxidante <i>in vitro</i> dos Extratos.....	99
5.3.1 Atividade antioxidante pelo sequestro de radicais livres - Método do DPPH.....	100
5.3.2 Avaliação da atividade antioxidante pela inibição da oxidação lipídica - Sistema β -caroteno/ácido linoléico.....	113

5.4 Resíduos de pesticidas.....	125
6 CONCLUSÕES.....	129
7 CONSIDERAÇÕES FINAIS.....	132
8 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	134
ANEXOS.....	151

1 INTRODUÇÃO

Têm sido observados sinais que evidenciam uma mudança de hábito alimentar entre os brasileiros, na direção de uma maior demanda por produtos orgânicos. A julgar pela presença desses produtos nas gôndolas das grandes redes de supermercados, estima-se que exista um potencial de mercado expressivo para esses produtos. Tais observações, por si mesmas, chamam a atenção para o potencial desse novo nicho de consumo e para a necessidade da implementação de análises sobre o tema (BORGUINI e MATTOS, 2002).

Há um mercado potencial para os produtos orgânicos, uma vez que existe grande desconforto de uma parcela da população em manter a aquisição e consumo de alguns alimentos convencionais, como tomate, morango e batata, cujo cultivo reconhecidamente envolve o emprego de substanciais quantidades de adubos sintéticos e pesticidas (PENTEADO, 2000). No entanto, existem controvérsias sobre os alimentos orgânicos, principalmente, quando são classificados como mais nutritivos e seguros, devido à escassez de dados científicos que assegurem tais vantagens em relação ao convencional.

Orgânico é um termo de rotulagem que indica que os produtos são produzidos com conciliação às normas da produção orgânica, e que estão certificados por uma estrutura ou autoridade de certificação devidamente constituída. A agricultura orgânica se baseia no emprego mínimo de insumos externos. No entanto, devido à contaminação ambiental generalizada, as práticas de agricultura orgânica não podem garantir a ausência total de resíduos. No entanto, é possível aplicar métodos destinados à reduzir ao mínimo a contaminação do ar, do solo e da água (FAO/OMS, 1999).

O tomate como produto agrícola representa uma importante *commodity* mundial e ocupa lugar de destaque na dieta humana. É uma das culturas vegetais mais versáteis e amplamente utilizadas, sendo consumido *in natura* e utilizado para preparação de uma ampla gama de produtos.

Tomates e produtos de tomate são ricos em componentes alimentares apontados como antioxidantes, sendo considerados fonte de carotenóides, em particular o licopeno, de ácido ascórbico e de compostos fenólicos (ABUSHITA et

al., 1997; VINSON et al., 1998; CLINTON, 1998; KAUR et al. 2002; GEORGE et al., 2004; SAHLIN et al., 2004). A composição química do fruto depende de fatores como a genética, a maturidade do fruto e as condições de cultivo (GIOVANELLI et al., 2002; ABUSHITA et al., 2000; THOMPSON et al., 2000; MARTINEZ-VALVERDE et al., 2002). No entanto, existem poucas informações sobre o efeito de diferentes formas de cultivo no potencial antioxidante dos tomates.

O consumo regular de tomate e seus produtos tem sido correlacionado à redução do risco de vários tipos de câncer e doenças cardiovasculares (GIOVANNUCCI et al., 1995; CLINTON, 1998). Este efeito positivo é atribuído aos antioxidantes, particularmente, aos carotenóides (licopeno e β -caroteno) e aos compostos fenólicos.

O tomate constitui-se uma das fontes predominantes de licopeno e compostos fenólicos na dieta da população brasileira, devido à sua disponibilidade para o consumo durante todo o ano e à sua alta versatilidade nas preparações culinárias.

Tomates podem ser cultivados em sistema orgânico ou convencional. A qualidade nutritiva de alimentos cultivados pelos dois sistemas é, geralmente, comparada em termos de macronutrientes, vitaminas e minerais. Os resultados destes estudos foram avaliados por BOURN e PRESCOTT (2002) levando-se em consideração três diferentes aspectos: o valor nutricional, a qualidade sensorial e a segurança do alimento. Os autores evidenciaram que existe reduzido acervo de estudos implementados de maneira adequada, que sejam capazes de viabilizar uma comparação válida. Existe ainda uma escassez de pesquisas que visem à comparação dos níveis de metabólitos secundários (antioxidantes) de vegetais cultivados nos referidos sistemas.

Desse modo, o principal objetivo da presente pesquisa foi comparar o efeito do cultivo (orgânico e convencional) sobre as características físico-químicas, o teor de compostos antioxidantes e a atividade antioxidante de tomates cultivar Carmem. Estabeleceu-se como principal hipótese que as distintas formas de cultivo afetam a produção de metabólitos secundários pelas plantas.

Os fatores nutricionais são considerados críticos para a saúde humana. Inúmeras evidências obtidas a partir de estudos epidemiológicos indicam que dietas ricas em frutas e hortaliças estão associadas com um menor risco de doenças crônicas

não-transmissíveis, o que é atribuído ao fato destes alimentos fornecerem uma mistura considerada adequada de fitoquímicos, como os antioxidantes naturais, as fibras e outros compostos bioativos. Entretanto, a capacidade de atuação como moduladores da promoção de saúde das frutas e hortaliças depende estritamente de sua forma de consumo (*in natura* ou processados). Este aspecto, segundo NICOLI et al. (1999), é comumente negligenciado ou pouco considerado pelos autores de estudos nutricionais e epidemiológicos. Estima-se que o processamento altera o conteúdo, a atividade e a biodisponibilidade dos compostos bioativos.

Em termos de contribuições dietéticas de um determinado alimento, deve-se considerar não apenas o teor de nutrientes, mas também a forma de preparo e a quantidade consumida daquele alimento. O processamento doméstico de tomates pode envolver a retirada da pele ou da semente para o consumo do fruto *in natura*. Embora, após estas preparações, os tomates possam ser consumidos crus, a retirada de determinada parte do fruto pode causar alterações no conteúdo de nutrientes (GEORGE et al., 2004). No caso do molho e do purê de tomate, além da retirada de determinadas partes do fruto (pele e semente), estes ainda são submetidos à homogeneização e ao tratamento térmico. No entanto, até o presente momento, não estão disponíveis resultados científicos que analisem e captem o efeito de tais preparações domésticas sobre o conteúdo nutricional do fruto.

De modo geral, estudos sobre o conteúdo de compostos antioxidantes e da atividade antioxidante de tomates não avaliam os possíveis efeitos do processamento doméstico. Em algumas pesquisas, quando são avaliados tomates *in natura* e produtos de tomate, a variedade dos frutos não é a mesma, desse modo, as diferenças encontradas podem ser decorrentes da matéria-prima e não apenas do processamento. Outra questão seria as condições de processamento, que freqüentemente não simulam corretamente as condições reais, seja para o processamento doméstico ou industrial.

Portanto, considerando-se que o preparo doméstico de alimentos pode ter um substancial efeito sobre o nível de nutrientes em relação ao alimento *in natura*, particularmente no teor de compostos antioxidantes e, conseqüentemente, na atividade antioxidante destes compostos, analisou-se a influência de diversas formas de preparo doméstico para o consumo de tomates.

Tendo em vista a lacuna de informações sobre os aspectos nutricionais dos alimentos orgânicos, quando comparados aos alimentos convencionais, e ainda, devido ao mercado promissor deste segmento, julgou-se pertinente a realização da presente pesquisa, com os objetivos descritos à seguir.

2 OBJETIVOS

2.1 Objetivo geral:

- Avaliar o potencial antioxidante, as características físico-químicas e os resíduos de pesticidas em tomates produzidos pelo método de cultivo orgânico e convencional, assim como das preparações e dos produtos derivados dos referidos frutos.

2.2 Objetivos específicos:

- Avaliar os teores de sólidos solúveis e de umidade das amostras;
- Avaliar a atividade de água, o pH e a cor das amostras;
- Avaliar os teores de fenólicos totais, de licopeno e de ácido ascórbico das amostras;
- Avaliar o teor de sólidos solúveis dos extratos;
- Avaliar o teor de fenólicos totais dos extratos alcoólico e aquoso;
- Avaliar o teor de ácido ascórbico do extrato aquoso;
- Avaliar a atividade antioxidante dos extratos (etéreo, etanólico e aquoso) por dois métodos (capacidade de sequestrar radicais livres e de inibir a oxidação lipídica);
- verificar a presença de resíduos de pesticidas nas amostras.

3 REVISÃO DE LITERATURA

3.1 Oxidação lipídica, espécies reativas de oxigênio e consequências biológicas

O oxigênio é um componente essencial para os seres vivos. A geração de espécies reativas de oxigênio (EROs) é inevitável no metabolismo aeróbico do organismo. Nas células, as EROs podem causar a oxidação de lipídios e proteínas, a quebra na fita de DNA e a modificação nas bases e na modulação da expressão gênica (LEE et al., 2004). Nos últimos anos, progressos sem precedentes foram alcançados no reconhecimento e entendimento do papel das EROs em muitas doenças, entre as quais encontram-se: arteriosclerose, cânceres, asma, artrite, doenças cardiovasculares, dermatites, catarata, danos na retina, hepatite, entre outras.

A oxidação lipídica é tradicionalmente descrita como uma reação em cadeia, via radical livre, com as seguintes etapas: iniciação, propagação e terminação. Os ácidos graxos insaturados são as estruturas mais suscetíveis ao processo oxidativo.

O mecanismo original de oxidação autocatalítica (autooxidação) dos lipídios foi proposto por FARMER (1946); BOLLAND e TEN HAVE (1947), citado por HALL III e CUPPETT (1997, p.141). No entanto, este modelo foi aprimorado e as etapas da oxidação lipídica por meio da reação em cadeia são apresentadas a seguir:

1. Iniciação

2. Propagação

3. Terminação

Onde:

LH = ácido graxo insaturado

HO[•] = radical hidroxila

L[•] = radical alila

LO[•] = radical alcoxila

LOO[•] = radical peroxila

LOOH = hidroperóxido

Na fase de iniciação ocorre a abstração de um átomo de hidrogênio da molécula de ácido graxo insaturado, o que normalmente é causado por um agente iniciador, que pode ser: presença de luz, calor, metais, radiações ionizantes, compostos radicais ou fitoquímicos em estado de excitação (HALL III e CUPPETT, 1997).

Em condições aeróbicas, o radical alila formado se combina com o oxigênio molecular muito rapidamente, produzindo o radical peroxila. A reatividade do radical peroxila é muito elevada e suficiente para abstrair outro átomo de hidrogênio de outro ácido graxo insaturado, propagando assim a reação em cadeia característica da oxidação de lipídios.

Com a abstração do hidrogênio pelo radical peroxila é formado o hidroperóxido, que na presença de metais de transição como o ferro, o cobre e o manganês pode se decompor e novamente gerar radicais livres, que voltarão à etapa de propagação da reação em cadeia.

Quando a concentração de radicais está elevada, inicia-se a ocorrência de interações entre eles formando compostos não radicais estáveis. Nesta fase, tem-se a terminação do processo oxidativo, que depende de fatores como a composição em ácidos graxos do sistema, a concentração de oxigênio, a presença de metais e de substâncias antioxidantes (HALL III e CUPPETT, 1997).

O mecanismo de autooxidação pode ocorrer nos tecidos animais e vegetais e em produtos obtidos dos mesmos como óleos e gorduras. Em sistemas biológicos, os ácidos graxos polinsaturados das membranas são muito vulneráveis ao ataque de radicais livres, os quais desencadearão reações de oxidação nos ácidos graxos da membrana lipoprotéica, denominada peroxidação lipídica, que afetará a integridade estrutural e funcional da membrana celular, alterando sua fluidez e permeabilidade (HALLIWELL e ARUOMA, 1997).

Nas plantas os cloroplastos, as mitocôndrias e os peroxissomos produzem espécies reativas de oxigênio como subproduto do metabolismo celular. De acordo com DAVEY et al. (2000), esta produção aumenta devido à uma série de estresses ambientais, entre eles: seca, falta de nutrientes, lesões, salinidade, exposição à poluentes (ozônio). Nos organismos aeróbios, a mitocôndria, que consome mais de 90% do oxigênio, é a principal fonte de espécies reativas de oxigênio e de radicais livres. Valores aproximados entre 1 e 5% do oxigênio consumido pela mitocôndria é reduzido e convertido à estas espécies reativas de oxigênio (LEE et al., 2004).

O termo espécie reativa de oxigênio inclui radicais livres [radical hidroxila ($\text{OH}^\bullet$), radical óxido nítrico ($\text{NO}^\bullet$), radical superóxido ($\text{O}_2^\bullet$), radical peroxila ($\text{ROO}^\bullet$) e radical alcóxila ($\text{RO}^\bullet$)] e os não radicais [peróxido de hidrogênio (H_2O_2), ácido

hipocloroso (HOCl), oxigênio singlete ($^1\text{O}_2$) e ozônio (O_3)]. No que diz respeito à reatividade, o radical hidroxila é extremamente reativo, podendo atacar moléculas biológicas, iniciando a reação em cadeia, enquanto o superóxido e o peróxido de hidrogênio são menos reativos e os radicais peroxila e alcoxila possuem reatividade intermediária (MELO e GUERRA, 2002)

As fontes exógenas geradoras de radicais livres incluem, tabaco, poluição do ar, solventes orgânicos, anestésicos, pesticidas e radiações (SOARES, 2002; KAUR e KAPOOR, 2001).

Organismos aeróbicos têm, portanto, desenvolvido uma gama de mecanismos para a neutralização das EROs por meio de mecanismos enzimáticos e não enzimáticos. Integram o mecanismo enzimático a superóxido desmutase, a glutathione peroxidase e a catalase. Antioxidantes de baixo peso molecular como o ácido ascórbico, o α -tocoferol (vitamina E), os carotenóides e os compostos fenólicos são capazes de interagir não enzimaticamente com as espécies reativas de oxigênio (DAVEY et al., 2000).

A condição de estresse oxidativo pode ser definida como o acúmulo intracelular de níveis tóxicos de espécies reativas de oxigênio por meio da saturação do sistema de defesa antioxidante. Mecanismos de defesa antioxidante do organismo humano, como as enzimas antioxidantes e os antioxidantes presentes nos alimentos estão ligados uns aos outros e equilibram as EROs (LEE et al., 2004). A ingestão de alimentos contendo antioxidantes, considerando-se a recomendação de consumo diário de 3 a 5 porções de hortaliças e 2 a 4 porções de frutas (USDA, 2000), pode contribuir para que os indivíduos reduzam as ações deletérias das EROs, equilibrando o estresse oxidativo para redução do risco de doenças crônicas não-transmissíveis.

Segundo ORTIZ et al. (2003), a prevenção da oxidação das biomoléculas pela ação de radicais livres derivados do O_2 , diminui o risco do desenvolvimento de processos degenerativos, como o envelhecimento, as doenças cardiovasculares e o câncer, entre outros. A relação inversa entre o consumo de micronutrientes e a incidência de doenças cardiovasculares se deve ao efeito inibitório da oxidação dos ácidos graxos poliinsaturados das LDLs (*low density lipoproteins*).

3.2 O papel dos antioxidantes

Antioxidantes são definidos como substâncias que, quando presentes em baixas concentrações em relação ao substrato oxidável, são capazes de inibir ou retardar substancialmente a oxidação daquele substrato. Os antioxidantes não se tornam radicais livres pela doação de elétrons, pois eles são estáveis em ambas as formas. Existem duas categorias básicas de antioxidantes denominadas sintético e natural (HALL III e CUPPETT, 1997).

Antioxidantes sintéticos têm sido utilizados para preservação de alimentos. São comumente utilizados: BHA (butil-hidroxianisol), BHT (butil-hidroxi-tolueno) e TBHQ (terci-butil-hidroxiquinona), os quais são aplicados em óleos e alimentos gordurosos para prevenir a deterioração oxidativa. No entanto, propriedades carcinogênicas têm sido apontadas para os antioxidantes sintéticos. Assim, pesquisas sobre o potencial de aplicação de antioxidantes naturais provenientes de alimentos, para proteger os alimentos da oxidação têm recebido maior atenção da comunidade científica (CHEUNG et al., 2003).

As características químicas dos antioxidantes incluem sua solubilidade, habilidade regenerativa, relação estrutura/atividade e biodisponibilidade, que são fatores importantes quando se considera o papel destes compostos na saúde humana (KAUR e KAPOOR, 2001). STAHL e SIES (2003) sugeriram que interações entre compostos estruturalmente diferentes e que possuem atividade antioxidante variável promovem proteção adicional contra o estresse oxidativo.

Antioxidantes são importantes na prevenção de doenças, tanto para plantas quanto para animais, inibindo ou atrasando a oxidação das biomoléculas por meio da prevenção da iniciação ou da propagação da cadeia de reações de oxidação. Agentes redutores, cuja função é transferir átomos de hidrogênio, como o ácido ascórbico, são considerados antioxidantes. Alguns antioxidantes também são capazes de quelar íons metálicos como cobre e ferro, os quais catalisam a oxidação lipídica (KAUR e KAPOOR, 2001).

Antioxidantes sintéticos requerem testes extensos e de custo elevado para comprovar a sua segurança para aplicação em alimentos e, por esta razão, existe o interesse no uso de antioxidantes naturais. A busca por substitutos naturais para os

antioxidantes sintéticos tem elevado o número de pesquisas envolvendo os alimentos de origem vegetal, que são potenciais fontes destas substâncias. Frutas e hortaliças contêm diversos compostos com propriedade antioxidante. Entre estes estão o ácido ascórbico, α -tocoferol, carotenóides e uma ampla variedade de compostos fenólicos (MARTINEZ-VALVERDE et al., 2002).

3.3 Alimentos e seus benefícios à saúde

O desenvolvimento científico tem levado a diferentes abordagens sobre a relação estabelecida entre dieta e saúde. Uma das mais estimulantes linhas de pesquisas das últimas décadas surgiu com a descoberta de um grupo de nutrientes, que apresenta efeitos protetores contra a oxidação celular. Estes compostos, que ocorrem naturalmente nos alimentos, atuam como antioxidantes no organismo por meio do seqüestro de radicais livres, que estão relacionados com a maioria das doenças crônicas não-transmissíveis. Estudos epidemiológicos têm estabelecido uma correlação positiva entre a ingestão de frutas e hortaliças e a prevenção de doenças como arteriosclerose, câncer, diabetes, artrite e também do envelhecimento. Assim, frutas e hortaliças receberam o *status* de alimentos funcionais, capazes de promover a saúde e de reduzir o risco de doenças. Compostos fenólicos, carotenóides, principalmente o licopeno, estão entre os antioxidantes mais estudados.

Um novo paradigma sobre dieta e saúde envolve questões que reforçam a ênfase para os aspectos positivos da dieta. NICOLI et al. (1999) registraram que há alguns anos, os estudos nutricionais eram caracterizados por uma tendência negativa, onde os alimentos eram reconhecidos por conterem contaminantes químicos, físicos e/ou biológicos, potencialmente prejudiciais à saúde humana. A maior parte das recomendações nutricionais alertava para que os indivíduos evitassem ou reduzissem a ingestão de alguns tipos de alimentos. As pesquisas na área de alimentos e a indústria alimentícia, diante dessas recomendações, reagiram visando a melhoria dos processos tradicionais ou promovendo novas soluções tecnológicas para criar produtos, como por exemplo, os alimentos *light* e funcionais, que podem contribuir para ampliar as possibilidades de escolhas alimentares da população. Deste ponto de

vista, a maior parte das mudanças e dos avanços no processamento de alimentos têm sido promovidos e incitados pela pesquisa na área de alimentos e nutrição.

ANDERSON e PHILLIPS (1999) registraram que uma dieta rica em frutas, hortaliças, castanhas e grãos integrais, associada à redução do consumo de gorduras contribuem para proteger contra uma série de doenças, incluindo doenças cardiovasculares e câncer. Segundo WEISBURGER (1999), uma das principais metas das pesquisas médicas contemporâneas tem como foco a prevenção das doenças crônicas, não apenas como um modo ético de manter a população saudável, mas também com vistas à redução dos elevados custos com atendimento médico. Indivíduos saudáveis apenas requerem exames médicos em intervalos regulares, portanto, evitam os exorbitantes custos para o cuidado com doenças e o uso hospitalar. Assim, em qualquer lugar do mundo, as tradições dietéticas deveriam envolver a ingestão diária de frutas, hortaliças e chá, ingestão adequada de fibras solúveis e insolúveis provenientes de grãos integrais e consumo, preferencialmente, de azeite de oliva em relação à outras fontes de gorduras. Exercícios físicos regulares deveriam integrar, obrigatoriamente, um estilo de vida saudável, que envolve, entre outros aspectos, a manutenção do peso adequado.

Os antioxidantes dos alimentos podem prevenir amplamente a ocorrência de uma seqüência de passos que levam à formação da placa de ateroma e, portanto, diminuem o risco de doenças cardíacas. Este fato aplica-se à maioria dos antioxidantes integrantes da dieta, tanto para aqueles de natureza polifenólica, quanto para os de estrutura química ligeiramente diferente como o licopeno, o β -caroteno ou as vitaminas C e E (WEISBURGER, 1999).

Ainda de acordo com WEISBURGER (1999), aproximadamente 35% da incidência de câncer no ocidente está associado com o uso do tabaco, particularmente, o cigarro. Na região do Mediterrâneo, especificamente no sul da Itália e Grécia, os fumantes têm uma menor incidência de doenças correlacionadas ao tabaco, pois a tradição dietética inclui a ingestão rotineira de frutas e hortaliças, incluindo produtos à base de tomate.

Os frutos são considerados como boas fontes de antioxidantes, os quais podem ser mais eficientes e menos custosos que os suplementos sintéticos para proteger o corpo contra danos oxidativos sob diferentes condições. Os antioxidantes

dos frutos, entre os quais incluem-se ácido ascórbico, tocoferóis, carotenóides e compostos fenólicos, variam amplamente em seus conteúdos e perfis entre os diversos frutos. Como resultado, a capacidade antioxidante de um fruto difere consideravelmente de outro (LEONG e SHUI, 2002).

3.4 Tomate como fonte de antioxidantes

O tomate é um membro da família das Solanáceas (a mesma família da batata), uma coleção de 1500 espécies tropicais e subtropicais, originárias da América Central e do Sul. É uma família importante como fonte alimentar, embora muitos de seus membros sejam caracterizados pela presença de elevadas concentrações de alcalóides (DAVIES e HOBSON, 1981).

A introdução do tomate no sul da Europa ocorreu logo após o descobrimento do Novo Mundo. O fruto foi inicialmente descrito como planta com fruto de ouro denominado *Pomi d'oro* (“maçã de ouro”), o que seria o *Licopersicon esculentum* (DAVIES e HOBSON, 1981).

O tomate como produto agrícola representa uma importante *commodity* mundial e parte integrante da dieta humana. Devido à sua disponibilidade durante o ano todo, o tomate e seus produtos têm recebido atenção no tocante aos micronutrientes (ABUSHITA et al., 1997).

No Brasil, o fruto é uma das hortaliças mais consumidas, tanto *in natura* quanto processado, por pessoas de todos os níveis socioeconômicos. Embora não seja uma rica fonte de pró-vitamina A, tomate e seus produtos merecem atenção, mesmo em termos de valores de vitamina A, por sua disponibilidade ao longo do ano e por seus preços acessíveis. Por outro lado, é uma excelente fonte de um carotenóide não pró-vitamínico, o licopeno, que é o responsável pela atrativa cor vermelha do fruto (TAVARES e RODRIGUEZ-AMAYA, 1994).

Os tomates e os produtos de tomate têm sido apontados como uma importante fonte de antioxidantes, tais como licopeno, compostos fenólicos e vitamina C, na dieta humana (ABUSHITA et al., 1997; VINSON et al., 1998; CLINTON, 1998; LAVELLI et al., 2000; TAKEOTA et al., 2001; KAUR et al. 2002; MARTINEZ-

VALVERDE et al., 2002; RAFFO et al., 2002; GEORGE et al., 2004; SAHLIN et al., 2004).

O conteúdo de antioxidantes de tomates *in natura* pode ser afetado por muitos fatores pré e pós-colheita. Os efeitos da cultivar (ABUSHITA et al., 1997; MARTINEZ-VALVERDE et al., 2002), do estágio de maturação na colheita (RAFFO et al., 2002) e do modo de preparo para o consumo (SHALIN et al., 2004) têm influência sobre a variação de antioxidantes nos frutos.

O tomate tem assumido o *status* de alimento funcional, considerando-se as evidências epidemiológicas que o apontam como sendo responsável pela redução do risco de certos tipos de câncer (NGUYEN e SCHWARTZ, 1998). O fruto é um reservatório de diversas moléculas antioxidantes, a saber: ácido ascórbico, vitamina E, carotenóides e compostos fenólicos (GEORGE et al., 2004).

O interesse por produtos à base de tomate tem aumentado pelo fato de seu consumo ter sido correlacionado à diminuição do risco de alguns tipos de câncer e doenças cardiovasculares (GIOVANNUCCI et al., 1995; CLINTON et al., 1996). De acordo com GEORGE et al. (2004), o consumo de tomate e de seus produtos tem sido considerado como um indicador nutricional de bons hábitos alimentares e estilo de vida saudável.

3.4.1 Carotenóides

Os carotenóides são pigmentos que desempenham o principal papel na proteção de plantas contra o processo foto-oxidativo (MANN, 1987). Eles são eficientes antioxidantes como seqüestradores de oxigênio singlete e de radicais peroxila. No organismo humano, os carotenóides integram o sistema de defesa antioxidante e interagem sinergisticamente com outros antioxidantes (STAHL e SIES, 2003). Os carotenóides são responsáveis pelas cores vermelho, laranja e amarelo das folhas, frutos e flores, assim como das cores de alguns pássaros, insetos, peixes e crustáceos. Apenas plantas, bactérias, fungos e algas são capazes de sintetizar carotenóides, porém, muitos animais os incorporaram por meio da dieta. Os carotenóides atuam como antioxidantes para os animais e o β -caroteno, denominado pró-vitamina A, é considerado como uma fonte de vitamina A.

Os carotenóides são encontrados em frutos de amplo consumo como o papaia, a goiaba e o tomate. No caso do tomate, o fruto pode conter (em 100g) 5 mg de carotenóides, dos quais 80% correspondem ao licopeno, um carotenóide de estrutura acíclica não ramificada. Tal característica facilita sua incorporação ao fígado, próstata e às glândulas adrenais, onde previne e reverte as alterações oxidativas associadas ao surgimento de diversas doenças (CLINTON, 1998).

Tomates e produtos de tomate estão entre os alimentos mais consumidos mundialmente e são freqüentemente as maiores fontes de carotenóides para a população. Nos produtos de tomate, a composição de carotenóides pode variar dependendo da matéria-prima e do tempo e severidade do processamento, que resultam em variados graus de degradação destes pigmentos (KIMURA e RODRIGUEZ-AMAYA, 2003).

Produtos à base de tomate como molho e purê de tomate são ricos em carotenóides e são amplamente consumidos pela população da cidade de São Paulo (Pesquisa de Orçamentos Familiares de 2002 e 2003). Estes alimentos são interessantes em termos de saúde pública, devido à associação demonstrada entre seu consumo e a redução do risco de certos tipos de câncer (INSTITUTO, 2004).

O purê de tomate é uma razoável fonte de pró-vitamina A e uma rica fonte de licopeno (TAVARES e RODRIGUEZ-AMAYA, 1994). O padrão de carotenóides de tomates *in natura* maduros foi estabelecido por GROSS (1987). Desse modo, os carotenos (carotenóides hidrocarbonos) predominaram, constituindo 90 a 95% do total de carotenóides, com elevados níveis de licopeno.

3.4.1.1 Licopeno

Nas hortaliças, os principais compostos antioxidantes têm estrutura polifenólica, como a quercitina. No entanto, o principal antioxidante nos tomates *in natura* e processados não é um polifenol, mas sim o licopeno (MANN, 1987). Este composto encontra-se, principalmente, na pele dos tomates e não está tão biodisponível nos frutos *in natura* quanto nos frutos processados sob elevadas temperaturas. O licopeno é considerado lipossolúvel. Por esta razão, o modo

Mediterrâneo de consumir tomates, cozidos juntamente com azeite de oliva, favorece a máxima absorção deste antioxidante (WEISBURGER, 1999).

O licopeno é encontrado também na goiaba vermelha (*Psidium guajava*), mamão papaia (*Carica papaya*), pitanga (*Eugenia uniflora*) e melancia (*Citrullus lanatus*).

Licopeno (ϕ,ϕ -caroteno) é um dos 600 carotenóides encontrados na natureza, que se acumula em relativamente poucos tecidos e pode facilmente ser identificado em frutos de tomate. Embora utilizado como corante alimentar há muitos anos, apenas recentemente o licopeno tem sido objeto de intensos estudos em relação à sua atividade antioxidante e o potencial para a prevenção de doenças crônicas. Tais descobertas têm conduzido à idéia de aumentar os níveis deste carotenóide nas culturas, particularmente no tomate, por cruzamento ou manipulação genética, com o objetivo de aumentar a quantidade ingerida de licopeno por meio da dieta (BRAMLEY, 2000).

Baseado em resultados de diferentes laboratórios, GROSS (1987) verificou que o conteúdo de carotenóides totais em tomate *in natura* maduro variou entre 9 e 19 mg/100g em base úmida. Desse total, o licopeno representa aproximadamente 90%.

Segundo BRAMLEY (2000), aproximadamente 85% do licopeno dietético tem como fonte os frutos e produtos de tomate, a proporção restante tem sido obtida por meio do consumo de melancia, goiaba e papaia. Entre os produtos de tomate, suco, *ketchup*, sopa, molhos para pizza e massas são os que mais contribuem como fonte de licopeno na dieta. A variação de valores para um mesmo produto é relacionada à diferenças entre cultivares de tomate utilizadas como matéria-prima e aos efeitos das condições de cultivo dos frutos sobre a síntese de carotenóides.

Os benefícios do tomate e seus produtos têm sido atribuídos, principalmente, ao conteúdo de carotenóides. Estes alimentos são uma excelente fonte de licopeno, que, embora desprovido de atividade pró-vitâmica, tem sido apontado por suas propriedades antioxidantes (STAHL e SIES, 1996; ABUSHITA et al., 2000).

Tomates (*Lycopersicon esculentum*) são amplamente consumidos, tanto na forma *in natura* quanto processados, e podem fornecer uma proporção significativa do total de antioxidantes ingeridos por meio da dieta. Entre os carotenóides do

tomate, o licopeno predomina, sendo o responsável pela cor vermelha do fruto de tomate e de seus produtos. O conteúdo de licopeno varia substancialmente nos frutos conforme o grau de maturação e a variedade do tomate. Além disso, o licopeno é relativamente estável durante o processamento e cozimento dos alimentos. A função do licopeno na planta é captar luz e protegê-la de danos fotooxidativos (THOMPSON et al., 2000).

O licopeno é um antioxidante importante, por ser razoavelmente estável ao armazenamento e ao cozimento e por estar presente em tomates processados por aquecimento, como aqueles que são consumidos freqüentemente na região do Mediterrâneo, ao que tem sido atribuído, em parte, o menor risco de doenças cardiovasculares e de câncer na região (WEISBURGER, 1999).

3.4.1.2 Biodisponibilidade do licopeno

Geralmente, a forma *trans* dos carotenóides é predominante na natureza (MANN, 1987). Os carotenóides são moléculas lipofílicas que revelam tendência de acúmulo em compartimentos lipofílicos, como membranas e lipoproteínas. Entre as várias estratégias de defesa do organismo humano, a maioria dos carotenóides envolve-se, provavelmente, na atividade de seqüestro de duas espécies reativas de oxigênio [oxigênio singlete ($^1\text{O}_2$) e radicais peroxila ($\text{RO}_2^\bullet$)]. O mais eficiente carotenóide é o licopeno, um carotenóide de cadeia aberta (STAHL e SIES, 2003).

Em relação à biodisponibilidade, verificou-se que o consumo de molho de tomate aumenta as concentrações séricas de licopeno em taxas maiores do que o consumo de tomates *in natura* ou suco de tomate fresco. A ingestão de molho de tomate cozido em óleo resultou, após um dia de sua ingestão, em um aumento de 2 a 3 vezes da concentração sérica de licopeno. No entanto, nenhuma alteração ocorreu quando se administrou suco de tomate fresco (GARTNER et al., 1997). Os autores concluíram que o licopeno de tomates *in natura* não está prontamente biodisponível e que o processamento de tomates poderia contribuir para o aumento da biodisponibilidade do licopeno, provavelmente, por libertá-lo da matriz. Além disso, o licopeno em tomates frescos está presente principalmente na forma isomérica *trans*. O processamento térmico do suco de tomate demonstrou aumentar a

isomerização para isômeros *cis*, conseqüentemente, tornando o licopeno mais biodisponível.

No estudo de SHI et al. (1999) não foram detectados isômeros *cis* em amostras de tomate *in natura*. De acordo com esses autores, o licopeno ocorre na natureza principalmente na configuração mais estável *trans*. Expressivo aumento nos isômeros *cis* com simultâneo decréscimo nos isômeros *trans* foi observado nas amostras de tomate desidratadas por meio de diferentes métodos (desidratação a vácuo a 55°C e desidratação por circulação de ar a 95°C). A desidratação convencional das amostras de tomate diminuiu consideravelmente a retenção de licopeno. Tal fato foi atribuído à influência da temperatura e do oxigênio. Provavelmente, o tratamento térmico desintegrou o tecido do tomate e aumentou sua exposição ao oxigênio e à luz, o que resultou na degradação do licopeno. Esta degradação não afeta apenas a cor do produto final, mais também seu valor nutritivo. A principal causa da biodegradação de licopeno na desidratação do tomate é a isomerização ou a oxidação. É presumível que o licopeno sofra isomerização com o processamento térmico. Esta isomerização resulta na conversão de isômeros *trans* para isômeros *cis*. A maior quantidade de isômeros *cis* foi encontrada nas amostras de tomates desidratados por circulação de ar a 95°C.

A desidratação de tomates a uma temperatura branda geralmente não causa perdas substanciais no conteúdo de licopeno total (NGUYEN e SCHWARTZ, 1998), mas a conversão de *trans* para *cis* sempre ocorre em produtos desidratados.

A diferença do nível de biodisponibilidade está relacionada com as formas isoméricas apresentadas pelo licopeno. CLINTON et al. (1996) demonstraram que 79 a 91% do licopeno presente nos tomates encontra-se sob a forma do isômero *trans* (*trans*-licopeno), em contraste com os níveis de licopeno sérico e tissulares, que estão presentes na forma de isômeros *cis* (*cis*-licopeno), em mais de 50%. O licopeno ingerido, na sua forma natural (*trans*-licopeno), é pouco absorvido, mas estudos demonstram que o processamento térmico dos tomates e seus produtos melhora a sua biodisponibilidade. Provavelmente, o processamento térmico rompe a parede celular e permite a extração do licopeno dos cromoplastos.

O licopeno é um carotenóide que possui 13 duplas ligações, das quais 11 são duplas ligações conjugadas e 7 das quais podem isomerizar da forma *trans* para *cis*

ou vice-versa, sob influência, entre outros fatores, do aquecimento, luz e ação mecânica. As mudanças no conteúdo de licopeno e a distribuição de isômeros *trans-cis* poderá resultar na redução da potência biológica, quando produtos à base de tomate são submetidos ao processamento (WILBERG e RODRIGUEZ-AMAYA, 1993; STAHL e SIES, 1996).

Segundo análises realizadas no Canadá por RAO et al. (1998), tendo por base a adoção de questionários de frequência alimentar, revelaram que a média de ingestão de licopeno, foi de 25 mg por dia, sendo 50% desta ingestão representada por tomates frescos. Considerando que o licopeno dos tomates frescos é menos biodisponível em comparação aos tomates processados, os autores sugeriram maior ingestão de tomates processados pela população daquele país.

3.4.1.3 Efeitos do licopeno sobre a saúde humana

São crescentes as evidências de que o consumo de frutas e hortaliças é importante para melhorar o potencial antioxidante do organismo. O tomate tem sido apontado como uma boa fonte de antioxidantes, portanto, têm sido propostos estudos para investigar o impacto de seu consumo sobre a saúde humana (PELLEGRINI et al., 2000).

O licopeno é o primeiro carotenóide a acumular-se, após a absorção, em tecidos e fluidos humanos, como a próstata e o soro sanguíneo, respectivamente. Uma vez ingerido, o licopeno aparece no plasma, inicialmente na VLDL (*very low density lipoprotein*) e posteriormente na LDL (*low density lipoprotein*) e HDL (*high density lipoprotein*). Os maiores níveis são encontrados na LDL. As concentrações séricas, no entanto, variam amplamente entre indivíduos (BRAMLEY, 2000). Sugere-se que o modo de ação do licopeno na prevenção de doenças cardiovasculares relacione-se às suas propriedades antioxidantes, levando à proteção das lipoproteínas contra a oxidação.

SHAMI e MOREIRA (2004) elaboraram uma revisão de dados científicos sobre o consumo de licopeno e a sua ação como fator antioxidante e concluíram que, orientações dietéticas à população seriam necessárias com vistas ao estímulo do consumo de alimentos fontes de licopeno, bem como de frutas e hortaliças ricas em

antioxidantes de maneira geral, visando suprir as demandas diárias, para evitar o estresse oxidativo e os danos celulares.

O aumento do consumo de tomate e seus produtos tem sido associado com a diminuição do risco de vários tipos de câncer, particularmente, ao câncer de próstata. Segundo GIOVANNUCCI et al. (1995), o licopeno é o carotenóide responsável pelo decréscimo do risco de câncer de próstata entre homens que consumiram quantidade relativamente elevada de tomate e produtos de tomate. Existem, no entanto, outros componentes em tomates que também podem atuar como agentes preventivos do câncer.

Os resultados do estudo de PELLEGRINI et al. (2000) mostraram que a ingestão de purê de tomate durante vários dias consecutivos pode aumentar expressivamente as concentrações de licopeno e β -caroteno no plasma. Entretanto, apesar do aumento observado nas concentrações destes nutrientes, o consumo de purê de tomate não apresentou efeito sobre a capacidade antioxidante do plasma. Uma hipótese apresentada pelos autores para este resultado, estaria relacionada à habilidade do método utilizado em identificar a contribuição das substâncias lipofílicas ingeridas em alterar capacidade antioxidante do plasma. Não existe uma confirmação de que os métodos desenvolvidos para avaliar a atividade antioxidante total do plasma sejam adequados para mensurar a atividade antioxidante de determinadas moléculas, como os carotenóides, que estão confinados no centro de uma lipoproteína. Desse modo, métodos mais sensíveis deverão ser desenvolvidos e validados para serem adotados com efetividade nesses modelos de estudos.

ORTIZ et al. (2003), com o objetivo de avaliar o efeito antioxidante do consumo de extrato de tomate, ministraram dietas suplementadas com extrato de tomate para 3 grupos de ratos durante 9 semanas. Os resultados demonstraram que a ingestão do extrato de tomate diminuiu a susceptibilidade da oxidação dos microsomas hepáticos e da HDL.

Estudos epidemiológicos têm sido conduzidos no sentido de investigar o papel do tomate e dos produtos de tomate na diminuição do risco de vários tipos de câncer. GIOVANNUCCI (1999) revisou pormenorizadamente os resultados e conclusões desses trabalhos, os quais sugeriram que a ingestão de produtos de tomate

e o nível plasmático de licopeno, ocasionado por esta ingestão, estavam consistentemente associados ao menor risco de diversos tipos de câncer.

Existem fortes evidências, baseadas em estudos envolvendo seres humanos, de que os carotenóides protegem a pele contra dano foto-oxidativo. Alguns efeitos protetores são alcançados com uma intervenção dietética. STAHL et al. (2001) comprovaram que a ingestão de massa de tomate, correspondendo a uma dose de 16 mg de licopeno por dia, durante 10 semanas, levou ao aumento nos níveis de licopeno no soro sanguíneo e de carotenóides totais na pele. A formação de eritema foi significativamente menor no grupo que ingeriu massa de tomate quando comparado ao grupo controle. Os autores concluíram que proteção contra eritema induzido por luz ultravioleta pode ser alcançada pela modulação da dieta.

Atualmente, existe o interesse na identificação dos benefícios à saúde decorrentes do consumo de carotenóides contra os efeitos possivelmente deletérios que ocorrem em certos grupos com características específicas, por exemplo, os fumantes. BÖHM et al. (2001) conduziram um estudo *in vivo* sobre a proteção dos linfócitos humanos, conferida pela suplementação dietética de licopeno, por meio da ingestão de alimentos ricos neste carotenóide, contra as seguintes espécies reativas de oxigênio: óxido de nitrogênio (NO_2) e oxigênio singlete ($^1\text{O}_2$). Os autores verificaram que uma dieta rica em licopeno, mantida durante 14 dias, aumentou o nível de licopeno sérico em 10 vezes, quando comparado ao soro obtido anteriormente à ingestão da referida dieta. Os autores obtiveram fatores de proteção relativos aos linfócitos de 17,6 e 6,3 contra os radicais NO_2 e $^1\text{O}_2$, respectivamente, o que reforça dados epidemiológicos, demonstrando proteção contra várias doenças crônicas, devido ao consumo de licopeno proveniente dos tomates.

De acordo com STAHL e SIES (1996), a atividade biológica do licopeno consiste em potencial antioxidante (seqüestro do oxigênio singlete e do radical peroxila), na comunicação intracelular e na inibição da proliferação celular. Um típico cromatograma de carotenóides do plasma humano demonstrou que o licopeno representa de 21 a 43% do total de carotenóides. Considerando-se a absorção de licopeno por meio do consumo de dietético, algumas condições que, possivelmente, melhoram a disponibilidade do licopeno para produtos à base de tomate processados termicamente seriam: a liberação de carotenóides induzida termicamente pela ruptura

da parede celular; ou uma melhora, devido ao aquecimento, da extração de licopeno na fase oleosa da mistura, quando é utilizado algum tipo de óleo para preparação do produto.

Análises sugerem que os benefícios à saúde devidos ao consumo de licopeno proveniente dos produtos de tomate estão correlacionados à atividade antioxidante deste carotenóide. Os ácidos graxos da dieta podem influenciar a absorção do licopeno, aumentando os níveis plasmáticos e a atividade antioxidante do licopeno. LEE et al. (2000) compararam o efeito do consumo de produtos a base de tomate contendo azeite de oliva extravirgem ao tomate contendo óleo de girassol quanto aos níveis de licopeno e atividade antioxidante do plasma. Os resultados demonstraram que a composição do óleo consumido (oliva ou girassol) não afetou a biodisponibilidade do licopeno dos produtos de tomate, uma vez que foram obtidos níveis similares de licopeno no plasma. Entretanto, a composição do óleo pode ter afetado a atividade antioxidante do plasma, pois o consumo de tomate com azeite de oliva aumentou expressivamente a atividade, enquanto nenhum efeito foi observado quando o óleo de girassol foi utilizado. Desse modo, os resultados mostraram que o consumo de produtos de tomate com azeite de oliva, mas não com óleo de girassol, melhorou a atividade antioxidante do plasma. No entanto, novos estudos são necessários para esclarecer se os efeitos antioxidantes observados por LEE et al. (2000) estão relacionados ao óleo de oliva ou à combinação óleo de oliva e produtos de tomate.

CLINTON (1998) sugeriu que o aquecimento de tomates com algum tipo de óleo aumenta a biodisponibilidade do licopeno. Os resultados do estudo de LEE et al. (2000) sugeriram ainda que a composição do óleo utilizado para o cozimento dos produtos de tomate, pode afetar a atividade antioxidante do plasma sanguíneo.

3.4.2 Compostos fenólicos

Os compostos fenólicos englobam desde moléculas simples até aquelas com elevado grau de polimerização. Os mesmos estão presentes nos vegetais nas formas livres ou conjugados (ligados a açúcares e proteínas). Entre os compostos fenólicos amplamente distribuídos na natureza encontram-se aqueles geralmente presentes em

todo o reino vegetal. De acordo com SOARES (2002), estes fenólicos estão divididos em dois grandes grupos: os flavonóides e seus derivados e os ácidos fenólicos (ácido cinâmico e derivados).

Os polifenóis são metabólitos secundários de plantas (VICKERY e VICKERY, 1981; MANN, 1987), que conferem às frutas e hortaliças características alimentares desejáveis e indesejáveis. Historicamente foram classificados como antinutrientes, como por exemplo, os taninos, que demonstraram efeitos adversos no metabolismo humano. Porém, o reconhecimento das propriedades antioxidantes destes fenólicos tem estimulado a implementação de pesquisas que visem identificar os seus potenciais benefícios à saúde (KAUR e KAPOOR, 2001).

Os compostos fenólicos são um dos maiores grupos de componentes dietéticos não-essenciais que estão associados à inibição da aterosclerose e do câncer. A bioatividade dos fenólicos pode ser atribuída à sua habilidade de quelar metais, inibir a peroxidação lipídica e sequestrar radicais livres (CHEUNG et al., 2003).

As propriedades antioxidantes dos fenólicos ocorrem, principalmente, devido à seu potencial de oxirredução, que os permitem atuar como agentes redutores, doando hidrogênio e neutralizando radicais livres (RICE-EVANS et al., 1997). Uma substância polifenólica pode ser definida como um antioxidante unicamente se preencher a duas condições, a saber: (a) quando estando presente em baixa concentração relativa ao substrato a ser oxidado este possa retardar ou prevenir a oxidação e; (b) quando os radicais formados após a reação sejam estáveis (KAUR e KAPOOR, 2001).

Muitas das pesquisas sobre a ação antioxidante dos alimentos têm como foco os compostos fenólicos, como é o caso dos flavonóides e os ácidos hidroxicinâmicos. A quercetina é um dos mais de 4000 fenólicos naturalmente disponíveis em plantas, com efeitos farmacológicos, que têm sido apontados como composto antioxidante. Além disso, ácidos hidroxicinâmicos, como os ácidos caféico, clorogênico, ferúlico, sinápico e p-cumárico contribuem para a ampla extensão da capacidade antioxidante de muitos compostos derivados de plantas. O tomate contém quercetina, naringenina, rutina e ácido clorogênico como os principais compostos fenólicos (MARTINEZ-VALVERDE et al., 2002).

Na dieta da população norte americana, o tomate tem sido apontado como a principal fonte de fenólicos, seguido pelo milho, feijão, batatas e alho (GEORGE et al., 2004). Embora o conteúdo de fenólicos em tomates seja apenas moderado, quando comparado a outras fontes potenciais, como o alho, sua expressiva presença na dieta brasileira torna-o uma boa fonte de fenólicos. Segundo os dados da Pesquisa de Orçamentos Familiares de 2002 – 2003 (INSTITUTO, 2004), o consumo de hortaliças frutosas (grupo no qual incluem-se abóbora comum, abobrinha, berinjela, chuchu, jiló, pepino, pimentão, quiabo, vagem e tomate) em São Paulo era de 15,2 kg por pessoa/ano, sendo o tomate a hortaliça mais consumida (média de 6,2 kg *per capita* por ano). Desse modo, merece destaque a ingestão de tomate, que representa 41% do total de hortaliças frutosas consumidas pela população da cidade de São Paulo. Esse dado é equivalente à média do consumo de tomate observado, quando se tomou por base a população das demais cidades pesquisadas, localizadas em outras regiões geográficas do Brasil.

3.4.2.1 Flavonóides

Os flavonóides possuem uma estrutura básica formada por $C_6-C_3-C_6$, sendo os compostos mais diversificados do reino vegetal. Neste grupo encontram-se flavonas, flavonóis, isoflavonas, catequinas, antocianinas, taninos, entre outros, dependendo do lugar, número e combinação dos grupamentos participantes da molécula (MANN, 1987).

Algumas variedades de tomate contêm elevados teores de flavonóis, principalmente quercitina. Flavonóis e flavonas são de particular interesse, uma vez que seu potencial antioxidante tem sido apontado, devido à capacidade de sequestrar radicais livres. Assim, o consumo de tomates tem sido associado à redução do risco de certos tipos de câncer (KAUR e KAPOOR, 2001).

Flavonóides são polifenóis bioativos, que ocorrem em alimentos de origem vegetal. Flavonóides, que pela natureza de sua estrutura química são antioxidantes, podem contribuir para a prevenção de arteriosclerose e câncer. Considera-se que a oxidação das LDLs desempenha um importante papel no processo de aterosclerose.

Os flavonóides apresentaram uma ação protetora contra a oxidação *in vitro* das LDLs (HOLLMAN e KATAN, 1999).

Segundo HOLLMAN e KATAN (1999), o tomate foi classificado como um alimento contendo um teor médio (menor que 50 mg/kg) de flavonóides, pertencentes às subclasses flavonol e flavonas. A quercitina, o principal flavonol presente nos alimentos, é absorvida pelo organismo humano. Flavonóis dietéticos podem contribuir substancialmente para as defesas antioxidantes presentes no plasma sanguíneo. A ingestão de flavonol e flavonas associa-se inversamente a doenças cardiovasculares. Estudos epidemiológicos implementados em diferentes países e culturas, análises sobre mecanismos biológicos e metabolismo, assim como, pesquisas de intervenção são necessárias para avaliar completamente o papel dos flavonóides na saúde humana.

STEWART et al. (2000) avaliaram o conteúdo de flavonol de 20 cultivares de tomates levando em consideração a variedade, o tamanho, a estação do ano e o país de origem dos frutos. Além desses, 10 produtos derivados de tomate, comumente consumidos, também foram analisados. Praticamente a totalidade (98%) dos flavonóis identificada nos tomates foi encontrada na pele. Os tomates apresentaram quercetina e canferol, principalmente na forma conjugada (ligados a moléculas de açúcar). O conteúdo total de flavonol (em base úmida) dos diferentes cultivares de tomate variou de 0,13 a 2,22 mg/100g do fruto. O menor fruto de tomate (tomate cereja) proveniente de regiões quentes e ensolaradas, como Espanha e Israel, apresentaram a maior concentração de flavonóis. Entre os produtos a base de tomate, o suco e o purê de tomate foram os mais ricos em flavonóis, sendo que o último continha 7,0 mg/100g (base úmida). De acordo com os autores, os flavonóis presentes em tomates são capazes de resistir aos métodos de processamento industrial.

Ainda de acordo com STEWART et al., (2000), em muitas espécies de plantas, o acúmulo de flavonóis aumenta em resposta à elevação da incidência de luz, em particular ao aumento da radiação UV-B. A exposição a elevados níveis de luz solar pode resultar em um aumento, na pele do fruto do tomate, da quantidade de compostos protetores, incluindo flavonóis. A maior proporção pele/volume do tomate cereja contribuiu para o seu elevado conteúdo de flavonol, quando comparado

a cultivares de frutos maiores. Assim, a variedade do fruto também foi identificada como um fator que afeta o conteúdo de flavonol em tomates.

RAFFO et al. (2002) registraram uma diminuição do conteúdo de quercetina e naringenina após o primeiro estágio de maturação, que pode ser associada ao envolvimento destes compostos nos mecanismos de defesa do fruto contra as espécies reativas de oxigênio, que são produzidos em expressivas quantidades, como consequência do aumento da taxa respiratória, durante o pico climatérico.

Devido à adição de produtos de tomate a muitos alimentos e à sua ampla utilização em diversas preparações, os tomates podem, de forma direta e indireta, representar uma grande contribuição para a ingestão diária de flavonóides.

3.4.2.2 Ácidos fenólicos

Os ácidos fenólicos são divididos em grupos. O primeiro é composto pelos ácidos benzóicos, que possuem sete átomos de carbono (C_6-C_1) e são os ácidos fenólicos mais simples encontrados na natureza. O segundo grupo é formado pelos ácidos cinâmicos, com nove átomos de carbono (C_6-C_3), entre os quais encontram-se os ácidos o-cumárico, p-cumárico, m-cumárico, ácido caféico, ferúlico e sinápico (SOARES, 2002).

Os ácidos hidroxicinâmicos tornaram-se um tema de grande interesse científico, uma vez que foi reconhecida a sua participação expressiva no total de fenólicos ingerido por meio da dieta e que são prontamente absorvidos no trato digestivo. Ácidos hidroxicinâmicos dietéticos consistem predominantemente nos ácidos ferúlico, caféico e clorogênico (MARTINEZ-VALVERDE et al., 2002).

O potencial antioxidante dos ácidos fenólicos presentes nos alimentos tem sido registrado a partir da atividade destes compostos em sistemas *in vitro*. SOARES (2002) enfatiza a necessidade de estudos *in vivo* para analisar a ação destas substâncias.

Os ácidos fenólicos, além de se apresentarem sob sua forma natural, podem também estabelecer ligações entre si ou com outros compostos. A combinação mais importante destes ácidos ocorre com o ácido caféico, o qual, associado a um álcool-

ácido cíclico, denominado ácido quínico, origina o ácido clorogênico (SOARES, 2002).

Os principais ácidos fenólicos presentes no tomate são os ácidos hidroxicinâmicos, particularmente os ácidos caféico e clorogênico. Segundo DAVIES e HOBSON (1981), do total de fenólicos encontrados em frutos verdes, entre 50 e 75% foram identificados como ácido clorogênico. Note-se, que a proporção diminui com o amadurecimento, devido a um brusco aumento de outros compostos fenólicos.

As mudanças no conteúdo de compostos fenólicos do tomate, assim como ocorre em outras frutas e hortaliças, podem ser influenciadas por fatores ambientais, como luz e temperatura, embora o controle genético seja o principal fator. Segundo RAFFO et al. (2002), entre os fenólicos, o principal composto encontrado em tomates foi o ácido clorogênico um ácido hidroxicinâmico conjugado, cuja concentração diminuiu gradualmente durante o amadurecimento. O ácido clorogênico exerce efeito protetor potencial para a saúde humana, sendo caracterizado por uma atividade antioxidante média. Devido à sua elevada concentração, pode contribuir expressivamente para a atividade antioxidante da fração hidrossolúvel do tomate. O ácido caféico na forma livre, sendo um precursor imediato do ácido clorogênico, revelou presença em baixas concentrações e também diminuiu notavelmente durante o amadurecimento.

CLIFFORD (1999) chamou a atenção para a ausência de dados com relação aos ácidos fenólicos para várias *commodities*, entre elas o tomate. O autor destacou que, muito freqüentemente, não são analisadas somente as partes comestíveis das plantas. Além disso, apenas ocasionalmente considera-se o grau de maturidade e a época de cultivo e os efeitos do processamento dos alimentos.

3.4.3 Ácido ascórbico

Tanto no metabolismo de plantas quanto no de animais, as funções biológicas do ácido ascórbico estão centradas nas propriedades antioxidantes da molécula. Evidências consideráveis vêm sendo expostas nas últimas décadas sobre a importância assumida pelo ácido ascórbico no processo de proteção não apenas das

plantas contra o estresse oxidativo, mas também à saúde dos animais, à medida que os protege contra várias doenças crônicas, que têm sua origem no estresse oxidativo. Estudos sugerem que o nível plasmático de ácido ascórbico em expressiva parcela da população está aquém da quantidade necessária para alcançar o efeito protetor desta vitamina (DAVEY et al., 2000).

A doença escorbuto, que é decorrente da grave deficiência de vitamina C, foi descrita pelos antigos gregos, romanos e egípcios. Entretanto, apenas nos últimos 30 anos numerosas funções biológicas do ácido ascórbico em animais e plantas têm sido elucidadas. Por exemplo, funções específicas do ácido ascórbico na síntese de colágeno e, conseqüentemente, na formação e na manutenção da cartilagem, ossos, pele e dentes foram registrados, assim como tem sido reconhecidos o aumento da atividade dos leucócitos e outros aspectos da melhora do sistema imune pelo ácido ascórbico (DAVEY et al., 2000).

A vitamina C ou ácido L-ascórbico é um constituinte de muitas espécies vegetais, encontrando-se, principalmente, nas frutas cítricas, tomate, batata e em várias outras frutas e hortaliças (PREGNOLATTO e PREGNOLATTO, 1985). Portanto, não é difícil obter um atendimento adequado às demandas por meio da dieta. A dose recomendada para manutenção de nível de saturação da vitamina C no organismo é de cerca de 100 mg por dia. Em algumas situações especiais, tais como infecções, gravidez e amamentação e em tabagistas, doses ainda mais elevadas são necessárias (MANELA-AZULAY et al., 2003).

A vitamina C encontra-se na natureza sob duas formas: reduzida (ácido L-ascórbico) ou oxidada (ácido deidroascórbico), ambas são igualmente ativas, porém, a forma oxidada é menos difundida nas fontes naturais. A transformação do ácido ascórbico em ácido deidroascórbico ocorre normalmente no interior do organismo e é reversível, permitindo que uma de suas substâncias possa sempre ser transformada na outra (VICKERY e VICKERY, 1981).

RONCADA e MAZZILI (1989) identificaram durante o período entre 1968 e 1973 os dados relativos ao consumo alimentar da população de 18 localidades paulistas, e analisaram a contribuição (percentual) dos alimentos para o fornecimento de algumas vitaminas. Os autores apontaram o tomate como uma das principais fontes de vitamina C, juntamente com a laranja e a couve.

A vitamina C é, geralmente, consumida em grandes doses pelos seres humanos, sendo adicionada a muitos alimentos industrializados. A vitamina C da dieta é absorvida de forma rápida e eficiente pelo organismo por um processo dependente de energia. O consumo de elevadas doses pode levar ao aumento da concentração dessa vitamina nos tecidos e no plasma sanguíneo (BIANCHI e ANTUNES, 1999).

De acordo com LEONG e SHUI (2002), é possível que o papel do ácido ascórbico na prevenção de doenças ocorra devido à sua habilidade de neutralizar a ação de radicais livres no sistema biológico. Doenças como o câncer, que ocorre devido à proliferação descontrolada de células, pode ter início pelo dano oxidativo ou por radicais livres, que afetam o DNA da célula. O ácido ascórbico é abundante em muitos frutos e é mais prevalente na maioria deles, quando se compara à presença de vitamina E (α -tocoferol). Portanto, acredita-se que o ácido ascórbico contribua amplamente para a atividade antioxidante dos extratos de frutos.

O ácido ascórbico é um dos mais efetivos antioxidantes presentes em frutas e hortaliças. Tal substância contribuiu para seqüestrar o radical ABTS^{•+} [ácido 2-2'-azino-bis(3-etilbenzotiazolin)6-sulfônico], quando foram analisados os extratos de 27 frutos provenientes de Singapura (LEONG e SHUI, 2002). No caso do tomate, o ácido ascórbico contribuiu para 29,1% da atividade de seqüestro do ABTS^{•+}.

Todas as frutas e hortaliças sofrem uma série de mudanças no pós-colheita. Na composição das frutas e hortaliças, tanto o pH, quanto à integridade do produto (inteiro ou picado) têm uma relação na retenção do ácido ascórbico. A vulnerabilidade de diferentes frutas e hortaliças com relação à perda oxidativa de ácido ascórbico tem ampla variabilidade. Frutos de pH baixo, como os citros, são relativamente estáveis, enquanto frutos menos ácidos sofrem mudanças mais rapidamente (DAVEY et al., 2000).

Os tomates contêm uma considerável quantidade de ácido ascórbico. Essa substância é relativamente estável em tomates, devido às condições de acidez encontradas no tecido. Os níveis de ácido ascórbico sofrem mudanças de acordo com a maturidade do fruto (SAHLIN et al., 2004).

Como se espera, para antioxidantes produzidos devido à função antioxidante do metabolismo vegetal, os níveis de ácido ascórbico ocorrem em resposta à uma

ampla gama de fatores ambientais. Estes incluem luz, temperatura, salinidade e estresse hídrico, a presença de poluentes atmosféricos, metais e herbicidas (DAVEY et al., 2000).

O conteúdo de nutrientes em alimentos está sujeito a variações dentro de uma mesma espécie, devido à fatores genéticos. No entanto, existem também diferenças devido à fatores ambientais e à práticas culturais. DAVIES e HOBSON (1981) registraram uma variação de sete vezes no conteúdo de ácido ascórbico de tomates dependendo de fatores como cultivar, estágio de maturação, tamanho, posição na planta, luz, tipo de solo, cultivo a campo ou em estufa. No que diz respeito à essas variações, a maturidade pode ter um considerável efeito no conteúdo de ácido ascórbico. No estudo de RAFFO et al. (2002), o conteúdo de ácido ascórbico, tanto para sua forma reduzida quanto para o total de ácido ascórbico (ácido ascórbico + ácido dehidroascórbico) - ambos exibidores de atividade vitamínica e contribuidores para o conteúdo de vitamina C - não mudaram expressivamente durante a maturação de tomates.

A vitamina C é um antioxidante hidrossolúvel. A atividade antioxidante do ácido ascórbico é causada por uma fácil perda de seus elétrons, tornando-o muito efetivo em sistemas biológicos. Por ser um doador de elétron, este serve como um agente redutor para muitas espécies reativas (KAUR e KAPOOR, 2001).

Todos os alimentos representam misturas complexas de componentes que tem o potencial de reagir e interagir uns com os outros. Assim, frutas e hortaliças passam por mudanças a partir do momento da colheita. O ácido ascórbico é um dos mais reativos compostos, sendo particularmente vulnerável ao tratamento e às condições de armazenamento. De modo geral, os estudos apontam para o fato do tratamento brando e a baixa temperatura melhorarem a retenção de vitaminas. No entanto, deve ser destacado que existe inúmeros fatores que interagem, afetando a retenção de ácido ascórbico.

Portanto, a recomendação mais prudente e com suporte científico para populações em geral é o consumo de uma dieta balanceada com destaque para a rotineira presença de frutas e hortaliças ricas em antioxidantes.

3.5 Consequências do processamento no potencial antioxidante dos alimentos

A capacidade das frutas e hortaliças, para atuarem como promotores da saúde depende da forma como o alimento é consumido (*in natura* ou processado). Reconhece-se que antioxidantes presentes naturalmente nos alimentos podem sofrer expressivas mudanças como consequência do processamento e do armazenamento. De modo geral, o tratamento térmico é considerado a principal causa da alteração do teor de antioxidantes naturais em alimentos (KAUR e KAPOOR, 2001).

Frutas e hortaliças processadas são geralmente consideradas como alimentos de menor valor nutricional, quando comparadas às mesmas na forma *in natura*, principalmente, devido à perda de vitamina C durante o processamento. Registros neste sentido foram feitos quando apenas alguns nutrientes termolábeis, como o ácido ascórbico, eram avaliados como indicador de danos decorrentes do processamento.

É importante registrar que produtos frescos sofrem mudanças durante o período de pós-colheita (durante a distribuição, comercialização e armazenamento), assim como também durante o processamento para o consumo (DAVEY et al., 2000).

NICOLI et al. (1999); DEWANTO et al. (2002) registraram que o processamento de alimentos exerce efeitos positivos, tais como a melhoria da qualidade sensorial, o aumento da vida útil do produto e a maximização de propriedades benéficas para a saúde. Este último aspecto é atribuído, principalmente, ao aumento da biodisponibilidade de alguns antioxidantes e à formação de compostos, como os produtos da reação de Maillard, reconhecidos por apresentarem atividade antioxidante. O impacto do processamento na atividade antioxidante de frutas e hortaliças é uma área negligenciada, sobre a qual existem poucas informações disponíveis. A consequência do processamento de alimentos na atividade antioxidante total é, geralmente, decorrente de distintas práticas.

As tabelas de composição de alimentos, que são ferramentas necessárias para subsidiar estudos epidemiológicos e nutricionais, geralmente, não levam em consideração o fato de que a concentração de nutrientes e sua atividade biológica podem mudar de acordo com fatores ambientais e genéticos, práticas agrônômicas e,

especialmente, em decorrência do modo de processamento dos alimentos. Este último aspecto é muito relevante, considerando-se que apenas uma pequena quantidade de frutas e hortaliças seja consumida *in natura*, enquanto a maior parte necessita de processamento por questões de segurança, qualidade e economia (NICOLI et al., 1999).

Ainda segundo NICOLI et al. (1999), a avaliação da influência do processamento de alimentos sobre o teor de antioxidantes é fundamental para a identificação das condições tecnológicas necessárias para preservar ou melhorar a atividade e a biodisponibilidade destes componentes. Além disso, do ponto de vista nutricional, o entendimento das conseqüências do processamento na composição dos alimentos é um importante passo para uma correta interpretação e avaliação dos resultados dos estudos que envolvem a análise dos hábitos alimentares e saúde humana.

Embora pesquisas sobre o efeito do processamento térmico na atividade antioxidante dos alimentos não tenham sido realizadas de modo exaustivo, várias análises registraram o efeito positivo do tratamento térmico na absorção de carotenóides e na sua eficiência *in vivo* (GIOVANNUCCI et al., 1995; CLINTON, 1998). O processamento e os procedimentos para preservação dos alimentos podem ser responsáveis tanto pelo aumento quanto pelo decréscimo da atividade antioxidante. Tais condições dependem de vários fatores, tais como: estrutura química e potencial de oxirredução do composto antioxidante, sua localização na matriz e possíveis interações com outros componentes do alimento, assim como conseqüências da intervenção tecnológica aplicada.

NICOLI et al. (1999) demonstraram que uma pequena quantidade de óleo de oliva misturada ao purê de tomate diminuiu, após poucas horas de armazenamento, o conteúdo de ácido ascórbico do produto. Portanto, quando se analisa as propriedades antioxidantes de alimentos complexos, deve-se considerar que os antioxidantes hidrossolúveis podem proteger antioxidantes lipossolúveis. Esta interação torna-se mais evidente quando há o emprego de aquecimento.

Na maioria dos casos, o processamento de alimentos realizado industrialmente ou mesmo durante o preparo de alimentos nos domicílios, pode ser responsável por uma significativa perda de antioxidantes naturais. Tal perda é

decorrente da instabilidade de parte dos compostos às condições de processamento. DAVEY et al. (2000) e DEWANTO et al. (2002) registraram a degradação do ácido ascórbico como consequência dos processos de branqueamento, cozimento, pasteurização, esterilização, desidratação e congelamento.

O tratamento térmico, embora geralmente considerado como a principal causa da redução de antioxidantes naturais, pode também induzir à formação de compostos com propriedades antioxidantes, como aqueles que ocorrem durante o desenvolvimento dos produtos da reação de Maillard. A diminuição de antioxidantes naturais em frutas e hortaliças termicamente tratadas pode também ser atribuída ao consumo de ácido ascórbico e polifenóis na reação de Maillard (KAUR e KAPOOR, 2001).

As mudanças nas propriedades antioxidantes de amostras de suco de tomate, como consequência do tratamento térmico, foram estudadas por ANESE et al. (1999). Os autores verificaram uma diminuição do potencial antioxidante quando se adotava tratamentos térmicos por períodos curtos e uma recuperação desta propriedade durante o tratamento térmico prolongado. A redução inicial na atividade antioxidante pode ser atribuída não apenas à degradação térmica dos antioxidantes, mas também à formação de precursores dos produtos da reação de Maillard com propriedades pró-oxidantes. O ganho em atividade antioxidante coincide com a formação de produtos da reação de Maillard. NICOLLI et al. (1997) sugeriram que a perda de vitaminas antioxidantes em purê de tomate durante o processamento pode ser compensada pela formação de outros antioxidantes, especialmente os produtos da reação de Maillard.

Desse modo, durante o processamento os compostos antioxidantes podem sofrer mudanças físicas e químicas, que alteram seus potenciais benefícios. Geralmente o processamento térmico resulta em uma diminuição do ácido ascórbico e tocoferóis e em um aumento dos carotenóides. Assim, KAUR e KAPOOR (2001) recomendaram que novos estudos sejam conduzidos no sentido de investigar os efeitos do processamento no conteúdo de antioxidantes naturalmente presentes nos alimentos.

Segundo NICOLI et al. (1999), existe a necessidade de implementar maior números de pesquisas envolvendo os efeitos do processamento na concentração,

atividade e disponibilidade de antioxidantes naturais, assim como, investigações sobre as condições de processamentos e os mecanismos responsáveis pela perda e/ou formação de antioxidantes. Os autores ainda mencionaram a importância de pesquisas sobre as interações entre antioxidantes, quando estes agem naturalmente e quando são induzidos pelo aquecimento, para que, desse modo, sejam avaliados seus efeitos na propriedade antioxidante total.

Perdas significativas de ácido ascórbico podem ocorrer durante qualquer período do pós-colheita e durante a preparação e o cozimento dos alimentos. Tal perda ocorre, em parte, devido à oxidação e parcialmente à transferência da vitamina para a água utilizada para o cozimento. DAVEY et al. (2000) sugeriram que um tratamento brando sob baixas temperaturas de cozimento seria capaz de melhorar a retenção de vitamina C. Segundo ESKIN (1989), a principal preocupação no que tange aos aspectos nutricionais em produtos processados de tomate era a perda do conteúdo de ácido ascórbico.

As técnicas de processamento mais relevantes para frutas e hortaliças são produção de conservas (enlatamento), congelamento e desidratação. Tais técnicas têm sido importantes para assegurar a disponibilidade comercial destes produtos ao longo do ano. A maior parte das frutas e hortaliças é sazonal e, com exceção para certas culturas como a batata, sofrem progressivas e, em alguns casos, rápidas mudanças quando armazenadas a temperatura ambiente. O mais afetado entre os nutrientes é o ácido ascórbico, portanto, este é utilizado como um marcador para deterioração de pós-colheita (DAVEY et al., 2000).

A perda de vitamina C ocorre inicialmente pela degradação química que envolve oxidação do ácido ascórbico a ácido deidroascórbico. O aquecimento é reconhecido por aumentar a velocidade do processo de oxidação do ácido ascórbico, portanto, o processamento térmico resulta em perda do conteúdo de vitamina C de frutas e hortaliças (DEWANTO et al., 2002).

Tomates são usualmente armazenados por algum tempo e freqüentemente processados para o consumo. O processamento geralmente envolve tratamento térmico e/ou homogeneização e ambos podem causar rupturas na matriz celular dos tomates. A interação da matriz celular determina a biodisponibilidade dos diferentes nutrientes. VAN HET HOF et al. (2000) verificaram que o tratamento térmico pode

causar efeitos deletérios sobre o conteúdo de micronutrientes das hortaliças, mas ao mesmo tempo pode aumentar a biodisponibilidade de alguns nutrientes.

O conteúdo de licopeno em produtos concentrados de tomate é geralmente menor do que o esperado, o que pode ser resultado de perdas durante o processamento (STAHL e SIES, 1996). Entretanto, de acordo com GIOVANNUCCI et al. (1995), procedendo-se o aquecimento do alimento, os carotenóides são liberados da matriz, como por exemplo a liberação do licopeno em tomates, que é necessária para sua efetiva utilização pelo organismo.

O potencial antioxidante de produtos processados é uma função direta da variedade utilizada como matéria-prima. Apreciáveis diferenças na atividade antioxidante têm sido observadas entre as diversas variedades de tomate (MARTINEZ-VALVERDE et al., 2002; SAHLIN et al., 2004).

Aquecer ou cozinhar tomates ou produtos de tomate pode aumentar a biodisponibilidade do licopeno. Durante o processamento, a ruptura da parede celular induzida termicamente e a conseqüente liberação do licopeno contribuem para o aumento do conteúdo deste carotenóide nos produtos a base de tomate (STHAL e SIES, 1992). A perda de água durante o processamento térmico também contribui para as altas concentrações de licopeno em produtos de tomate.

DEWANTO et al. (2002) demonstraram que o processamento térmico elevou a atividade antioxidante total e a biodisponibilidade do conteúdo de licopeno em tomates e não produziu mudanças significativas no conteúdo de fenólicos totais, embora tenha sido registrada a perda de vitamina C. De acordo com os autores, o processamento térmico elevou o valor nutricional dos tomates pelo aumento do conteúdo e da biodisponibilidade do licopeno e devido ao aumento da atividade antioxidante total.

3.6 Considerações sobre os métodos analíticos

3.6.1 Métodos para a quantificação de compostos antioxidantes

Segundo DAVIS et al. (2003), alguns passos críticos na determinação de licopeno são: manutenção do ambiente à meia luz enquanto ocorre a manipulação das amostras, uma vez que a luz degrada o licopeno; e uma homogeneização efetiva e completa dos tecidos destinados à extração do pigmento.

O cromatograma do extrato de hexano obtido à partir de tomates e produtos de tomates demonstrou um pico principal representando licopeno, o qual contribuiu para 98% do total de carotenóide (RAO et al., 1998). Um método espectrofotométrico foi desenvolvido para quantificação de licopeno. Para validar o método espectrofotométrico, RAO et al. (1998) analisaram o extrato em hexano também por HPLC. Os resultados da estimativa espectrofotométrica e por HPLC foram concordantes. Estes resultados indicaram que o método espectrofotométrico pode ser utilizado com segurança para análises do conteúdo de licopeno de tomate e produtos de tomate. Além disso, este método demonstrou-se mais conveniente e rápido e menos custoso do que o método por HPLC. Um grande número de amostras pode ser analisado em um período de tempo relativamente curto.

A maioria das análises de vitamina C emprega indicadores de redução-oxidação. A titulação pelo método de Tillmans baseia-se na redução do indicador 2,6 diclorofenol-indofenol por uma solução ácida de vitamina C (PREGNOLATTO e PREGNOLATTO, 1985). Como o método é fidedigno apenas devido à presença de substâncias antiescorbúticas, é aceito exclusivamente para quantificação de ácido ascórbico (DAVIES e HOBSON, 1981).

3.6.2 Avaliação da atividade antioxidante

3.6.2.1 Preparo das amostras

O dano oxidativo pode ser evitado pela otimização das condições de desidratação e armazenamento de produtos de tomate. Produtos de tomate, sendo

comumente desidratados por meio da exposição a temperaturas elevadas e em presença de oxigênio, demonstram maior susceptibilidade ao dano oxidativo. O conteúdo de licopeno e de ácido ascórbico, assim como a atividade antioxidante, dos extratos hidrofílico e lipofílico de tomate *in natura* e desidratados a 70°C foram mensurados por GIOVANELLI et al. (2002). A desidratação de tomates por circulação de ar e aquecimento causou um dano severo ao produto, ocorrendo uma considerável perda de ácido ascórbico. Inversamente, o licopeno demonstrou expressiva estabilidade durante a desidratação. Os resultados confirmaram que o licopeno e a atividade antioxidante da fração lipofílica tem alta estabilidade ao processo de desidratação. Porém, confirmaram que o ácido ascórbico foi muito susceptível ao dano oxidativo.

SHI et al. (1999) sugerem que a desidratação a vácuo seja utilizada para manter a atividade antioxidante dos produtos de tomate. ZANONI et al. (2000) encontraram as condições ótimas para armazenamento de tomates com umidade entre 20 e 40%, a saber: sob vácuo, ao abrigo da luz e em temperatura menor ou igual a 18°C.

O estudo de VINSON et al. (1998) teve como objetivo avaliar a quantidade e a qualidade de antioxidantes fenólicos em 23 hortaliças. Os produtos foram liofilizados, triturados até a obtenção de uma “farinha” e armazenados à -20°C até sua utilização. Do mesmo modo, na presente pesquisa, as amostras foram desidratadas pelo processo de liofilização, que consiste na desidratação a vácuo e a baixas temperaturas para preservar o teor de compostos antioxidantes.

3.6.2.2 Métodos para avaliação *in vitro* da atividade antioxidante

Tendo em vista uma rápida avaliação da eficácia antioxidante de compostos químicos ou extratos vegetais, foram registrados pela literatura especializada diversos trabalhos. Segundo ANDERSON e PHILLIPS (1999), a utilização de métodos *in vitro* para avaliação do potencial benéfico dos antioxidantes está repleto de dificuldades e desafios. As reações envolvidas na oxidação e redução são extremamente sensíveis ao meio no qual elas ocorrem, particularmente, à concentração de oxigênio, à presença de íons metálicos em transição e aos

numerosos compostos com potencial de oxirredução. Assim, não é rara a obtenção de resultados contraditórios na avaliação de um único antioxidante, utilizando-se diferentes sistemas *in vitro*.

VAN BOEKEL e JONGEN (1997) registraram que os alimentos são matrizes complexas de fatores que interagem entre si. Desse modo, medir a capacidade antioxidante de alimentos pode estabelecer uma classificação de alimentos saudáveis.

Existem diversos componentes antioxidantes em tecidos animais e vegetais, o que torna relativamente difícil mensurar a ação de cada componente antioxidante separadamente. Além disso, pode existir o efeito sinérgico entre os diferentes compostos antioxidantes presentes no alimento. Desse modo, a atividade antioxidante total da amostra pode ser maior que a soma da atividade de cada composto, quando mensurada isoladamente. Neste caso, o isolamento de um composto não refletirá exatamente a sua ação antioxidante. Vários métodos analíticos têm sido propostos para determinar a atividade antioxidante total de extratos biológicos, com o objetivo de avaliar a capacidade antioxidante total das amostras (MELO e MANCINI-FILHO, 1989; BRAND-WILLIAMS et al., 1995).

VANBOEKEL e JONGEN (1997); NIKI (2002) sugeriram que a avaliação da bioatividade, como a capacidade antioxidante, pode ser mais útil quando se considera a avaliação dos benefícios gerais dos alimentos do que a avaliação de um micronutriente específico, especialmente no caso de alimentos processados.

Os testes acelerados, recorrendo a condições padronizadas de oxidação acelerada (oxigenação intensiva, tratamento térmico e/ou catálise metálica), permitem estimar de forma rápida a estabilidade oxidativa de ácido graxo ou a eficácia “teórica” de um antioxidante, isolado ou em associação. Uma vez que os fenômenos naturais de oxidação são processos lentos, desenvolvendo-se freqüentemente ao longo de vários meses. Deste modo, os testes de estabilidade acelerados assumem particular importância na rotina analítica (SILVA et al., 1999).

O método do DPPH utiliza o radical livre disponível comercialmente DPPH, que é solúvel em metanol (BRAND-WILLIAMS et al., 1995). O grau de descoloração do radical DPPH• a 517 nm pela ação dos antioxidantes é medido espectrofotometricamente em uma solução metanólica até a absorbância permanecer constante e indicar a eficiência do antioxidante adicionado em remover o radical.

Alguns autores recomendam a utilização do método do DPPH por ser um recurso fácil e preciso para a avaliação da atividade antioxidante de extratos obtidos a partir de frutas e hortaliças.

O modelo de seqüestro do radical estável DPPH é um método amplamente utilizado para avaliar atividade antioxidante em um intervalo de tempo relativamente curto, quando comparado a outros métodos. O efeito dos antioxidantes sobre o seqüestro do radical DPPH é atribuído à habilidade destes compostos de doar hidrogênio. Este método foi reconhecido por LEONG e SHUI (2002) como uma ferramenta útil para avaliar a capacidade antioxidante total de frutos.

De acordo com NIKI (2002), vários métodos têm sido utilizados para avaliar a atividade antioxidante, entretanto, não há um simples método universal pelo qual a atividade antioxidante possa ser mensurada qualitativa e quantitativamente. Segundo o autor, dois pontos devem ser observados: (a) a eficácia do seqüestrador de radicais livres, que é determinada não apenas pela reatividade do antioxidante em direção ao radical livre, mas também pela sua concentração; (b) a eficácia do seqüestrador de radical livre depende da localização do antioxidante. Por exemplo, a vitamina C é um potente seqüestrador de radical hidrofílico, mas não para radical lipofílico.

O sistema β -caroteno/ácido linoléico, que consiste da descoloração (oxidação) do β -caroteno induzida pelos produtos da degradação oxidativa do ácido linoléico, estima a habilidade relativa de compostos antioxidantes presentes em extratos de plantas de seqüestrar o radical peróxido do ácido linoléico ($\text{LOO}^\bullet$), que oxida o β -caroteno presente na emulsão. Este método tem sido amplamente utilizado, porém com diferentes meios de extração dos alimentos (KAUR e KAPOOR, 2002). O método é amplamente utilizado para avaliação da atividade antioxidante de matrizes alimentares. Como não ocorre a altas temperaturas, permite a determinação do poder antioxidante de compostos termolábeis e a avaliação qualitativa da eficácia antioxidante de extratos vegetais (SILVA et al., 1999).

De acordo com SILVA et al. (1999), a comparação da atividade antioxidante só será legítima se levar em consideração o solvente utilizado para extração dos compostos, a concentração do extrato e as condições do método analítico escolhido. A eficácia dos vários compostos na proteção dos sistemas lipídicos deve ser comparada na mesma concentração molar a padrões puros, como o

BHT, o BHA e o α -tocoferol. Além do aspecto comparativo, a medida do padrão para cada ensaio realizado é importante para assegurar a repetibilidade do teste.

3.7 Alimentos orgânicos

Segundo SOUZA (2003), a busca por alimentos provenientes de sistemas de produção mais sustentáveis como os métodos orgânicos de produção, é uma tendência que vem se fortalecendo e se consolidando em nível mundial.

No Brasil, o sistema orgânico de produção está regulamentado pela Lei Federal nº 10.831, de 23 de dezembro de 2003, que contém normas disciplinares para a produção, tipificação, processamento, envase, distribuição, identificação e certificação da qualidade dos produtos orgânicos, sejam de origem animal ou vegetal. De acordo com a referida Lei, considera-se sistema orgânico de produção agropecuária todo aquele em que são adotadas técnicas específicas, mediante a otimização do uso dos recursos naturais e socioeconômicos disponíveis e o respeito à integridade cultural das comunidades rurais, tendo por objetivo a sustentabilidade econômica e ecológica, a maximização dos benefícios sociais, a minimização da dependência de energia não-renovável, empregando, sempre que possível, métodos culturais, biológicos e mecânicos, em contraposição ao uso de materiais sintéticos, a eliminação do uso de organismos geneticamente modificados e radiações ionizantes, em qualquer fase do processo de produção, processamento, armazenamento, distribuição e comercialização, e a proteção do meio ambiente (BRASIL, 2003).

De acordo com TORJUSEN et al. (2001), a agricultura orgânica tem sido praticada desde 1920, inicialmente como uma resposta à industrialização da agricultura. Com relação às metas da agricultura orgânica, as mais relevantes para os consumidores são: a não utilização de pesticidas e fertilizantes químicos sintéticos, de organismos geneticamente modificados, de estimulantes de crescimento sintéticos e de antibióticos; e o uso restrito de aditivos em alimentos processados.

De acordo com SOUZA (2003), quanto menos direta for a relação entre produtores e consumidores, maior será a necessidade de instrumentos formais de certificação da produção. Isso ocorre devido à maior distância entre os agentes e à dificuldade em se observar as características inerentes a esses produtos.

Existem, mundialmente, centenas de agências de certificação orgânica, as quais estabelecem seus próprios padrões de produção e processo de certificação. No Brasil existem cerca de 15 certificadoras. Um pequeno número destas agências obteve autorização da *International Federation of Organic Agricultural Movements* (IFOAM), baseado na verificação de que estariam operando de acordo com os padrões básicos da IFOAM. O Instituto Biodinâmico (IBD), com sede no município de Botucatu – SP, que certificou os tomates orgânicos integrantes da amostra da presente pesquisa, é autorizado pela IFOAM.

Os produtos comercializados *in natura* são os mais expressivos na produção orgânica nacional, sobretudo as hortaliças (SOUZA, 2003). Entre os produtos orgânicos destinados à exportação, merecem destaque a soja, café, cacau, açúcar mascavo, erva-mate, suco de laranja, mel, frutas secas, castanha de caju, óleos essenciais, óleo de palma, frutas tropicais, palmito, guaraná e arroz.

Estima-se que 90% dos agricultores orgânicos no país sejam classificados como pequenos produtores ligados a associações e grupos de movimentos sociais. Os 10% restantes são representados pelos grandes produtores ligados a empresas privadas. Os agricultores familiares são responsáveis por 70% da produção orgânica, com maior expressão na região sul do país, enquanto na região sudeste, observa-se maior adesão aos sistemas orgânicos de produção por parte de propriedades maiores (SOUZA, 2003).

Pesquisa realizada por ARCHANJO et al. (2001) demonstrou que os consumidores que freqüentavam a feira de produtos orgânicos de Curitiba apresentavam algumas peculiaridades. A maioria estabelecia uma estreita relação entre alimentação e saúde e muitos começaram a freqüentar a feira seguindo uma prescrição médica. Alguns consumidores não demonstraram essa preocupação com cuidados à saúde por meio da alimentação e justificavam a preferência por alimentos orgânicos devido à qualidade organoléptica. À medida que despendiam mais recursos financeiros comprando alimentos orgânicos do que gastariam com alimentos convencionais, os consumidores acreditavam que investiam na saúde. Para estes consumidores, o alimento orgânico significava um meio de prevenir e até mesmo de curar doenças. O alimento, dessa forma, adquire valor simbólico de medicamento, por meio do qual se busca garantir a saúde. Tais registros são comuns em pesquisas

sobre o consumo de alimentos orgânicos (ASSIS et al., 1995; CERVEIRA e CASTRO, 1999).

Os meios de comunicação têm divulgado as vantagens da alimentação baseada em produtos orgânicos, o que vem contribuindo para aumentar o número de consumidores destes alimentos. Segundo ARCHANJO et al. (2001), o crescimento do consumo não está diretamente relacionado com o valor nutricional dos alimentos, mas aos diversos significados que lhes são atribuídos pelos consumidores. Tais significados variam desde a busca por uma alimentação mais saudável, de melhor qualidade e sabor, até a preocupação ecológica de preservar o meio ambiente.

De acordo com TORJUSEN et al. (2001), as pessoas que compravam alimentos orgânicos manifestaram maior preocupação no tocante às questões éticas, ambientais e de saúde. A maior parte dos consumidores estava atento aos aspectos de produção e de processamento dos alimentos orgânicos, dando ênfase aos alimentos isentos de substâncias prejudiciais à saúde. Muitos deles preocupavam-se também com o conteúdo nutricional dos alimentos.

Segundo SOUZA e ALCÂNTARA (2003), no mercado de produtos orgânicos não existe um parâmetro definido para o estabelecimento de preços, mas sabe-se que as estratégias de atribuição de preços variam amplamente de acordo com o estabelecimento comercial. Por exemplo, nas grandes redes varejistas o sobre-preço cobrado em relação aos produtos convencionais é bem mais elevado, enquanto nas feiras de produtos orgânicos essa diferença é reduzida. Em média, os produtos orgânicos *in natura* têm um sobre-preço 40% maior que o dos produtos convencionais, porém, alguns produtos, como o trigo e o açúcar, chegam a custar, respectivamente, 200% e 170% acima do convencional na venda ao atacado. Os preços são um fator limitante para o consumo de orgânicos, como pode ser observado por meio da totalidade das pesquisas nacionais e internacionais sobre o consumo destes alimentos.

3.7.1 Comparação entre o valor nutritivo de alimentos orgânicos e convencionais

Devido ao substancial aumento do interesse do consumidor pelos alimentos orgânicos, existe a necessidade de conhecer em que medida há bases científicas para as alegações de superioridade feitas para a produção orgânica.

De acordo com BOURN e PRESCOTT (2002); REN et al. (2001), considerações sobre o impacto do sistema orgânico de produção na biodisponibilidade de nutrientes e no teor de compostos antioxidantes, têm recebido pequena atenção e são importantes direções para futuras pesquisas.

Estudos comparando alimentos produzidos no sistema orgânico e convencional foram avaliados por BOURN e PRESCOTT (2002) sob três diferentes aspectos: valor nutricional, qualidade sensorial e segurança do alimento. Os autores afirmaram que existem poucos estudos bem controlados, que sejam capazes de fazer uma comparação válida. Com possível exceção ao conteúdo de nitrato, os autores não verificaram fortes evidências de que alimentos orgânicos e convencionais diferem quanto ao teor de nutrientes.

Segundo os autores supracitados, não foram encontradas evidências de que os alimentos orgânicos sejam mais susceptíveis à contaminação microbiológica do que alimentos convencionais. É provável que alimentos produzidos organicamente tenham menor quantidade de resíduos de pesticidas, porém, existe reduzido acervo de pesquisas relativas à análise de resíduos nestes alimentos.

Existe uma considerável variação nos tipos e nos delineamentos de estudos visando a identificação de diferenças entre o valor nutricional de alimentos orgânicos e convencionais. Ainda de acordo com os referidos autores, são quatro os tipos básicos de comparação: 1) a análise química de alimento orgânico e convencional adquiridos no comércio; 2) o efeito da fertilização na qualidade nutricional das culturas; 3) a análise dos alimentos orgânicos e convencionais provenientes de propriedades conduzidas organicamente e convencionalmente; 4) o efeito da ingestão dos alimentos orgânicos e convencionais sobre a saúde humana ou animal. A presente pesquisa segue o terceiro tipo de delineamento.

Estudos com o foco no efeito do tipo de fertilizante sobre o valor nutricional do alimento e aqueles que envolvem análises de alimentos comprados no comércio não permitem claras conclusões sobre o impacto do sistema de produção orgânico e convencional no valor nutritivo. No primeiro tipo de estudo, embora importante, apenas um aspecto da produção é considerado, a adubação, enquanto no segundo tipo, pouco ou nada é conhecido sobre a origem dos alimentos avaliados. Entretanto, dado que estudos sobre diferentes tratamentos com fertilizantes são mais baratos e mais fáceis de serem conduzidos, quando comparados aos resultados obtidos por meio de estudos envolvendo o sistema de produção como um todo, fica claro que o primeiro tipo seja o mais freqüente. Enquanto estes estudos contribuem para o conhecimento sobre os efeitos da fertilização, os mesmos não respondem claramente às questões quanto ao efeito dos diferentes sistemas de produção sobre o valor nutricional das culturas. Informações mais precisas sobre diferenças do valor nutricional podem ser obtidas a partir da análise de alimentos provenientes de propriedades orgânicas e convencionais, pois o efeito de todo o sistema de produção sobre o valor nutricional, seria realmente avaliado (BOURN e PRESCOTT, 2002).

TOOR et al. (2006) verificaram a influência de diferentes tipos de fertilizantes sobre os principais componentes antioxidantes de tomates e concluíram que as fontes de adubos podem ter um expressivo efeito sobre a concentração destes compostos. A utilização de adubos orgânicos aumentou os níveis de fenólicos totais e ácido ascórbico. Entretanto, os autores afirmam que são necessários estudos em escala comercial para confirmar tais resultados.

SMITH (1993) analisou o teor de minerais de alimentos adquiridos em várias lojas da cidade de Chicago durante o período de dois anos. As frutas (maças e pêras), batatas e milho foram selecionados entre amostras de alimentos convencionais e orgânicos, considerando-se variedades e tamanhos similares. Os resultados revelaram que nos alimentos orgânicos, as concentrações foram superiores para os seguintes minerais: cálcio (63%), ferro (59%), magnésio (138%), fósforo (91%), potássio (125%), zinco (72,5%), sódio (159%) e selênio (390%). Inversamente, foi verificado, menor conteúdo de alumínio (40%), chumbo (29%) e mercúrio (25%). Desse modo, esse estudo sugere que existem diferenças significativas, quando se estabelece a

comparação entre a composição dos alimentos orgânicos e convencionais relativamente a minerais.

A pesquisa de SMITH (1993) foi muito divulgada na mídia popular, assegurando que o alimento orgânico é mais nutritivo que o alimento convencional. Porém, o delineamento do estudo impede que os resultados sejam conclusivos, pois aparentemente não foi atribuída devida atenção para verificar se os produtos rotulados como orgânicos eram de fato provenientes de um sistema orgânico de produção. Acrescenta-se, também, o fato de que não foram mencionados detalhes sobre o sistema de amostragem.

Alguns pesquisadores argumentam que o melhor meio de avaliar os nutrientes, é através da análise dos alimentos adquiridos diretamente nos locais de compra. Entretanto, esta abordagem não considera que algumas variáveis não controladas, como maturidade na colheita e tipo de cultivar e as condições de produção, possam mascarar alguma possível diferença no valor nutricional.

Identificar os agentes de comercialização ou produtores de alimentos orgânicos e convencionais, que atuem numa área similar e estabelecer um protocolo experimental que permita documentar as informações do sistema de produção, tais como: data de colheita, condições de distribuição e transporte, condições de armazenamento, entre outras, pode ser o mais indicado (BOURN e PRESCOTT, 2002). Neste caso, haveria a necessidade de estabelecer um maior número de ensaios conduzidos em diferentes áreas no sentido de poder estabelecer alguma conclusão generalizada.

Pesquisa realizada por SCHUPHAN (1974) na Alemanha durante um período de doze anos, visou a comparação entre dois padrões de aplicação de fertilizantes na produção de espinafre, batata, cenoura e repolho. Em um processo, foi utilizado um fertilizante convencional de alta solubilidade contendo NPK (nitrogênio, fósforo e potássio) e no outro, houve a adoção de adubo orgânico. Os resultados revelaram que houve um decréscimo de 24% na produtividade quando se utilizou adubo orgânico. No entanto, ao examinar os demais resultados, obtidos para os alimentos cultivados com a aplicação da adubação orgânica, observou-se o acréscimo de matéria seca (23%), proteína (18%), vitamina C (28%), açúcares totais (19%), metionina (23%), ferro (77%), potássio (18%), cálcio (10%) e fósforo (13%). Inversamente, verificou-

se o decréscimo do sódio (12%) e do nitrato (93%). Embora a produção absoluta tenha sido menor com o uso dos adubos orgânicos, o substancial aumento da matéria seca, vitaminas e minerais resultou em um alimento de maior valor nutricional.

Reconhece-se que a aplicação de fertilizantes no sistema de produção afeta a composição do produto. O estudo de SCHUPHAN (1974) é freqüentemente citado para confirmar a superioridade do valor nutricional dos produtos orgânicos.

Alguns pesquisadores mantêm-se atentos para controlar variáveis como localização da propriedade, cultivar e maturação na colheita, como uma maneira de reduzir o número de fatores potenciais que podem afetar o valor nutricional. Os estudos comparando o sistema de produção como um todo têm relativa vantagem, pois evitam atribuir importância a fatores individuais no valor nutricional dos alimentos. Além disso, é importante que as propriedades venham sendo manejadas orgânica ou convencionalmente por um considerável período de tempo.

Segundo BOURN e PRESCOTT (2002), a ampla gama de fatores que podem afetar a composição dos alimentos (genéticos, práticas agronômicas, clima e condições de pós-colheita) faz com que as investigações sobre o valor nutricional de alimentos produzidos orgânica e convencionalmente sejam difíceis de serem estabelecidas e interpretadas. No entanto, devido ao crescente interesse neste tema e ao aumento da produção e do consumo de alimentos orgânicos, pesquisas devem ser implementadas neste sentido.

3.8 Resíduo de pesticidas em alimentos

O uso de produtos químicos na agricultura teve início na década de 50, logo após o final da Segunda Guerra Mundial. De acordo com os alvos contra os quais são destinados, os citados produtos químicos são denominados inseticidas, fungicidas, herbicidas, nematicidas, entre outros (KOTAKA e ZAMBRONE, 2001). Este conjunto de produtos químicos recebeu as seguintes denominações: defensivos agrícolas, pesticidas, praguicidas, produtos fitossanitários ou agrotóxicos (este último termo restrito ao Brasil, por força da Lei nº 7.802/89).

O aumento do uso de produtos químicos na agricultura tem gerado preocupação crescente, quanto aos riscos à saúde humana e ao meio ambiente. Esta

preocupação decorre de casos de doenças registradas em seres humanos e das alterações ambientais, que parecem ter como agentes etiológicos os agrotóxicos. De acordo com KOTAKA e ZAMBRONE (2001), no Brasil, o uso de produtos químicos na agricultura depende do registro concedido pelo Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (MAPA), condicionados a autorizações do Ministério da Saúde (MS) e do Instituto Brasileiro do Meio Ambiente e Recursos Naturais Renováveis (IBAMA).

A produção orgânica de alimentos surge como uma alternativa ao quadro de contaminação química dos alimentos, buscando oferecer produtos isentos de resíduos químicos. Os atributos de qualidade dos produtos obtidos por meio da agricultura orgânica, como a ausência de resíduos químicos ou aditivos sintéticos, representam alto grau de afinidade com o conceito de segurança do alimento, que inclui a aquisição pelo consumidor de alimentos de boa qualidade, livre de contaminantes de natureza química (pesticidas, aditivos), física ou biológica (SOUZA e ALCÂNTARA, 2003).

Uma das maiores preocupações dos consumidores com relação ao uso de agrotóxicos na agricultura é o conhecimento se os alimentos estão contaminados com resíduos tóxicos que possam comprometer à saúde. Conforme a Portaria nº 03, de 16 de janeiro de 1992, da Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA), resíduo de agrotóxico consiste em “substância ou mistura de substâncias remanescente ou existente em alimentos ou no meio ambiente decorrente do uso ou da presença de agrotóxicos e afins, inclusive quaisquer derivados específicos, tais como produtos de conversão e de degradação, metabólitos, produtos de reação e impurezas, consideradas tóxicas e ambientalmente importantes”.

A agricultura orgânica se baseia no emprego mínimo de insumos externos. Devido à contaminação ambiental, as práticas de agricultura orgânica não podem garantir a ausência total de resíduos. No entanto, é possível adotar métodos destinados à reduzir ao mínimo a contaminação do ar, do solo e da água. Os manipuladores, elaboradores e vendedores aderem às normas que mantêm a integridade dos produtos da agricultura orgânica (FAO/OMS, 1999).

Os consumidores freqüentemente citam a preocupação com a saúde, como a principal razão para consumir alimentos orgânicos. A possível ausência de

agrotóxicos é apontada como o principal atributo destes alimentos. Considerando-se a proibição da aplicação de pesticidas químicos sintéticos no sistema orgânico de produção, seria razoável assumir que alimentos produzidos organicamente, em geral, contêm menores níveis de resíduos de pesticidas do que aqueles produzidos convencionalmente. Entretanto, a escassez de dados sobre a presença de resíduos de pesticidas em alimentos produzidos organicamente não permite conclusões definitivas para estabelecer alguma diferença entre alimentos orgânicos e convencionais (BOURN e PRESCOTT, 2002).

A quantidade de pesticidas utilizada na produção de um vegetal varia amplamente de cultura para cultura. Um considerável número de fatores irá afetar a presença de resíduos em alimentos, incluindo o estágio de desenvolvimento da cultura em que o pesticida foi aplicado, a persistência do produto, o uso de pesticida no pós-colheita e o nível de pesticidas presentes no meio ambiente (BOURN e PRESCOTT, 2002). Devido à tendência de uso de pesticidas na agricultura convencional, é provável que os consumidores de orgânicos estariam, no mínimo, consumindo menos tipos de resíduos. Porém, ainda não foi elucidado se estes resultados envolvem benefícios à saúde dos consumidores.

Ainda de acordo (BOURN e PRESCOTT, 2002), considerando-se que muitos consumidores optam por comprar alimentos produzidos organicamente por assumirem que esses alimentos possuem um menor nível de resíduos de pesticida, seria interessante implementar pesquisas com vistas à confirmação de tal suposição. No futuro, com a tendência de declínio do uso de pesticidas nas culturas produzidas convencionalmente, devido à técnicas de produção como o Manejo Integrado de Pragas, pode ser que a questão dos resíduos de pesticidas venha se revelar menos importante para a decisão dos consumidores pela compra de alimentos orgânicos em comparação à outras questões.

Conforme a Portaria nº 03, de 16 de janeiro de 1992, da Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA), Ingestão Diária Aceitável (IDA) é a “quantidade máxima que, ingerida diariamente durante toda a vida, parece não oferecer risco apreciável à saúde, à luz dos conhecimentos atuais. É expressa em miligramas (mg) do agrotóxico por quilograma (kg) de peso corpóreo (mg / kg p.c.)”. De acordo com a mesma Portaria, Limite Máximo de Resíduo (LMR) significa a “quantidade

máxima de resíduo de agrotóxico legalmente aceita no alimento, em decorrência da aplicação adequada numa fase específica, desde sua produção até o consumo, expressa em partes (em peso) do agrotóxico ou seus derivados por um milhão de partes de alimento (em peso) (ppm ou mg / kg)” (ANVISA, 1992).

Para garantir a qualidade dos alimentos e a segurança para a população, o Ministério da Saúde exige que sejam realizadas análises de resíduos de agrotóxicos comprobatórias da segurança do alimento em todas as culturas para as quais ele será registrado. Os níveis de resíduos eventualmente detectados nos alimentos devem ser inferiores ao LMR estabelecido após a realização de todos os estudos toxicológicos necessários para efeito de registro. Os testes toxicológicos realizados têm como um de seus principais objetivos, determinar qual a quantidade que poderá ser ingerida pelas pessoas (IDA), sem que isto provoque qualquer tipo de dano à sua saúde (LOURENÇO, 2003).

Em muito países, a presença e a quantidade de resíduos de agrotóxicos em alimentos nacionais e importados são monitoradas para assegurar que a população tenha acesso a uma dieta dentro do nível de tolerância (LMR) recomendado com base nos estudos de Ingestão Diária Aceitável. Para tanto, os Limites Máximos de Resíduos são estabelecidos internacionalmente e divulgados pela *Food and Agriculture Organization* (FAO). Este monitoramento pode contribuir para ampliar a confiança do consumidor na qualidade dos alimentos ofertados e minimizar possíveis riscos à saúde pública (LOURENÇO, 2003).

No Brasil, existem normas que visam a regulamentação do uso de defensivos na agricultura, mas, salvo em alguns estados, que dispõem de fiscalização efetiva, a obediência às leis ainda esbarra em questões sócio-culturais peculiares de cada região (ARAÚJO et al., 2000).

A presença de resíduos de defensivos em alimentos, somada à contaminação da água, constituem risco para a população em geral e representam, sem dúvida, um grande problema de saúde pública no Brasil. Com o objetivo de ampliar o nível de conhecimento da situação, ARAÚJO et al. (2000) analisaram a utilização de defensivos em tomates produzidos no estado de Pernambuco. Outras motivações para a pesquisa referem-se ao fato da grande importância socioeconômica da cultura desse fruto e o potencial risco epidemiológico relacionado à saúde dos consumidores, dos

referidos alimentos. No modelo dominante de produção, a cultura do tomate demanda uso intensivo de agroquímicos e esse fruto integra o hábito alimentar da população em geral.

De acordo com os referidos autores, as regiões integrantes da pesquisa careciam, indiscriminadamente, de ações que visassem à proteção da saúde dos trabalhadores rurais, que lidavam com os defensivos e, também, de medidas visando a proteção do meio ambiente, que se revelou gravemente comprometido. Os autores relataram ainda que, produtos sem registro autorizado para o uso na produção de tomates, eram comumente utilizados pelos agricultores. Tal situação era agravada pelo fato de não existir qualquer tipo de controle sistemático da presença de resíduos de defensivos nos alimentos ou dos produtos comercializados no estado de Pernambuco. Observou-se ainda a escassez de campanhas efetivas com vistas à orientação, apoio e educação dos produtores envolvidos. Foi registrado o desconhecimento por parte dos produtores e aplicadores de defensivos no que se refere aos efeitos tóxicos para a saúde e o meio ambiente, associados ao uso indevido dos produtos não-autorizados.

CALDAS E SOUZA (2000) a partir de dados de consumo de alimentos registrados pela Pesquisa de Orçamentos Familiares, realizada pelo IBGE, em 1995-96, identificaram os alimentos que mais contribuíram para a Ingestão Diária Máxima Teórica (IDMT) de pesticidas. O cereal (arroz) e a leguminosa (feijão) de expressivo consumo pela população brasileira, as frutas, principalmente as cítricas, e o tomate foram alimentos que exerceram papel preponderante para a elevação da ingestão.

O estudo de LOURENÇO (2003) teve por objetivo discutir as possíveis interações entre os agrotóxicos, de uso autorizado, em produtos de origem vegetal, como tomate, banana e maçã, consumidos nas principais regiões metropolitanas brasileiras e o possível risco à saúde humana. O autor concluiu que existe perigo, à saúde humana, de interações com efeitos danosos e de diferentes proporções. À medida que outros estudos forem realizados nesta linha de pesquisa, os resultados gerados permitirão que as autoridades competentes harmonizem os interesses agrícolas com a proteção da saúde pública. Neste contexto, a população tem o direito de conhecer os riscos a que está exposta ao ingerir cada alimento e, a partir disso, optar pelo que prefere consumir.

Ainda de acordo com LOURENÇO (2003), os danos à saúde humana, devido à ingestão de resíduos de agrotóxicos em alimentos só poderão ser minimizados pelo uso restrito, controlado e racional desses produtos na agricultura. Existe uma necessidade urgente de ações na área de saúde pública para que seja possível uma identificação rápida e segura das intoxicações causadas por agrotóxicos.

Também de acordo com LOURENÇO (2003), como medidas de segurança, a população tenta evitar os possíveis riscos da presença de resíduos de agrotóxicos em alimentos, entre outras práticas, comprando alimentos orgânicos que, em geral, são mais caros que o convencional e preferindo a aquisição de produtos de origem vegetal com selo de qualidade e consumindo alimentos da época.

Vale registrar que o consumo de alimentos seguros significa a promoção da saúde e manutenção da qualidade de vida da população. A garantia de alimento livre de contaminantes é essencial para a prevenção de doenças, principalmente em um país como o Brasil, onde uma parte considerável da população enfrenta sérios problemas relativos aos distúrbios nutricionais e de acesso ao sistema público de saúde (CALDAS e SOUZA, 2000).

4 MATERIAL E MÉTODOS

4.2 Material

Durante a seleção das amostras do alimento, tomou-se o cuidado de manter controlados diversos fatores, tais como: cultivar do tomate, região de produção, época de plantio, grau de maturação, condições de transporte, embalagens adotadas, exposição à umidade, calor e luz.

Foram analisados frutos de tomate (*Lycopersicon esculentum*) cultivar Carmem produzidos por cultivo orgânico e convencional, destinados ao consumo à mesa. A cultivar destinada à mesa Carmem foi selecionada para a realização da pesquisa, por se tratar de cultivar amplamente comercializada e consumida pela população do estado de São Paulo.

Os dois lotes, cada qual contendo 20 kg, de frutos de tomate cultivar Carmem produzidos organicamente no município de Indaiatuba, estado de São Paulo, foram adquiridos na feira da Associação de Agricultura Orgânica (AAO), localizada no Parque da Água Branca na cidade de São Paulo. O produto apresentava certificação do Instituto Biodinâmico (IBD), que é autorizado pela *International Federation of Organic Agricultural Movements* (IFOAM), e da certificadora da Associação de Agricultura Orgânica (AAO), para a comercialização com a denominação produto orgânico e tinha como destino a referida feira de produtos orgânicos e os supermercados, por meio de uma distribuidora de produtos orgânicos para grandes redes varejistas. Os dois lotes, cada qual contendo 20 kg de frutos de tomate cultivar Carmem produzido convencionalmente provenientes do município de São José de Ubá, estado do Rio de Janeiro, foram adquiridos diretamente de um comercializador de tomates na Companhia de Entrepósitos e Armazéns Gerais de São Paulo – CEAGESP, na cidade de São Paulo. Os frutos foram colhidos no ano agrícola de 2003/2004, quando atingiram o ponto comercial denominado “salada”, baseando-se na classificação pela cor, determinada pela Companhia de Entrepósitos e Armazéns Gerais do Estado de São Paulo (s.d.) (CEAGESP) e adotada pelos produtores.

Os produtores de tomates orgânicos e convencionais foram selecionados, tendo em vista a importância de se dispor de alimentos cuja época de plantio e colheita fossem coincidentes para os dois tipos de cultivo (Quadro 1).

Quadro 1. Épocas de plantio e de colheita dos tomates, produzidos por meio de cultivo orgânico e convencional.

Cronograma	Convencional	Orgânico
Época do plantio	Maio de 2004	Maio de 2004
Data da colheita	19 de Setembro de 2004	13 de Setembro de 2004

Fonte: informações fornecidas pelos produtores.

4.3 Preparo das amostras

As amostras foram preparadas vinte e quatro horas após o recebimento, nos laboratórios de Bromatologia e de Técnica Dietética do Departamento de Nutrição da Faculdade de Saúde Pública da Universidade de São Paulo. O preparo seguiu os registros de algumas técnicas de preparo adotadas para consumo nos ambientes domésticos. Os tomates foram lavados com água corrente e água destilada e, posteriormente, secos com toalhas de papel. Posteriormente foram produzidos os seguintes tratamentos: tomate *in natura* inteiro; tomate *in natura* sem pele, obtido por meio de descascamento manual; tomate *in natura* sem semente; molho de tomate; e purê do tomate.

4.3.1 Preparações

- Tomate *in natura* com pele;
- Tomate *in natura* sem pele, por meio de descascamento manual;
- Tomate *in natura* sem semente: os frutos foram partidos ao meio e as sementes foram retiradas manualmente.

4.3.2 Produtos

- Molho de tomate: foi elaborado de acordo com receita tradicionalmente utilizada no preparo doméstico deste tipo de molho;

Ingredientes: 4 kg de tomates, dos quais foram retiradas pele e semente, picados em pedaços pequenos; 2 colheres (de sopa) de azeite de oliva; 200 g de cebola; 8 g de alho; 4 colheres (de chá) de sal; 2 colheres (de chá) de açúcar; 2 xícaras (de chá) de água.

- Purê de tomate: os tomates foram picados, triturados em liquidificador e peneirados para a obtenção da polpa que, posteriormente, foi concentrada visando atender aos parâmetros descritos na norma do *Codex Alimentarius* para os produtos concentrados de tomate (CODEX STAN 57 – 1981), que define purê de tomate como concentrado de tomate que contenha de 8 a 24% de sólidos solúveis.

Ingredientes: 4 kg de tomates; 1 colher (de chá) de sal; 1 colher (de chá) de açúcar.

Quadro 2. Parâmetros de cocção dos produtos de tomate.

Produto	Tempo de cozimento (minutos)	Temperatura máxima (°C)
Molho	106	90
Purê	120	95

4.3 Análises físico-químicas

Os frutos foram picados e, posteriormente, triturados e homogeneizados em liquidificador doméstico na velocidade máxima. O molho também foi triturado e homogeneizado em liquidificador. O purê foi triturado e homogeneizado durante o

processamento, portanto, as amostras de purê foram simplesmente misturadas e pesadas nas respectivas quantidades para a realização das diversas análises.

- a) Atividade de água (A_w): foi determinada por meio do medidor automático da marca Aqualab, modelo CX-2. A atividade de água foi expressa pela razão pressão de vapor da água do alimento sobre pressão de vapor da água pura a mesma temperatura.
- b) Teor de sólidos solúveis totais: foi determinado utilizando-se o refratômetro Atago, modelo N-1, homogeneizando-se a amostra e transferindo-se 1 ou 2 gotas para o prisma do refratômetro, desprezando-se partículas grandes de polpa. Os resultados foram expressos em °Brix.
- c) Umidade: foi determinada por gravimetria, segundo as Normas Analíticas da AOAC (1995). Foram pesados 5g de cada amostra em cápsula de porcelana que, posteriormente, foi colocada em estufa a $105^{\circ}\text{C} \pm 1^{\circ}\text{C}$, seguido de pesagens regulares até peso constante. Os resultados foram expressos em percentagem (%) de água da amostra.
- d) Potencial hidrogeniônico (pH): foi determinado na amostra triturada, utilizando-se um potenciômetro portátil da marca Ingold, modelo pH206. Os resultados foram expressos em unidades de pH.
- e) Cor: o homogenato, obtido a partir das amostras, foi transferido para uma cubeta de vidro óptico. A cor foi medida utilizando-se o colorímetro Color Quest II Sphere, modelo CQII/UNI – 1200 da marca Hunter Lab, configurado no sistema colorimétrico L, a e b.

O ângulo de cor foi calculado com base nas seguintes equações:

$$H^{\circ} = \tan^{-1} (b^{*}/a^{*}) \text{ quando } a^{*} > 0 \text{ e } b^{*} \geq 0$$

$$H^{\circ} = 180 + \tan^{-1} (b^{*}/a^{*}) \text{ quando } a^{*} < 0$$

- f) Teor de ácido ascórbico: determinação obtida pesando-se 10 g de polpa triturada e homogeneizada, a qual foi diluída em 90 mL de ácido oxálico a 0,4%. Após agitação para homogeneização, foi tomada uma alíquota de 2 mL e transferida para erlenmeyer de 125 mL, adicionados 50 mL de água destilada, que na sequência foi titulada com Reativo de Tillmans (2,6 diclorofenol-indofenol), até a obtenção de uma coloração ligeiramente rosada e estável por 15 segundos. Os teores de ácido ascórbico das amostras foram calculados tomando-se por base um padrão de ácido ascórbico, previamente determinado. Os resultados foram expressos em mg de ácido ascórbico por 100 g de amostra (PREGNOLATTO e PREGNOLATTO, 1985).
- g) Teor de fenólicos totais: a extração de compostos fenólicos foi realizada de acordo com procedimento de GENOVESE et al. (2003) para determinação do conteúdo de fenólicos totais em frutos com o reagente Folin-Ciocalteu. As amostras foram extraídas na proporção 1:20 (m/v) com metanol, utilizando-se Ultra Turrax da marca IKA, modelo T18 basic, por 1 minuto em velocidade 5. O resíduo foi re-extraído na mesma proporção. Os extratos obtidos foram filtrados utilizando-se papel de filtro e o volume completado para 50 mL. A determinação de fenólicos totais foi realizada de acordo com ZIELISKI e KOZOWSKA (2000) modificado por GENOVESE et al. (2003): 0,25 mL dos extratos foi adicionado a 2 mL de água destilada e 0,25 mL do reagente de Folin-Ciocalteu, decorrido três minutos à temperatura ambiente, adicionou-se 0,25 mL de solução saturada de carbonato de sódio e, imediatamente, os tubos foram colocados em banho a 37°C durante 30 minutos para o desenvolvimento da cor. Este método baseia-se na redução dos ácidos fosfomolibdico e fosfotúngstico em solução alcalina, sendo o mais utilizado para a determinação de compostos fenólicos totais em alimentos. A cor azul, produzida pela redução do reagente Folin-Ciocalteu pelos fenólicos, foi medida em espectrofotômetro CECIL CE 1020, modelo 1000 Series, a 750 nm. Os resultados foram calculados com base na equação da reta obtida a partir da curva padrão do ácido gálico (Figura 1). Os resultados foram expressos em mg de equivalente de ácido gálico (EAG) por 100 g da amostra.

Figura 1. Curva padrão do ácido gálico.

- h) Licopeno: a determinação das concentrações de licopeno baseou-se no procedimento descrito por SADLER et al. (1990). A extração foi realizada sob condições de pouca luz para evitar a isomerização e degradação do licopeno. Cinco gramas (5 g) do homogenato das amostras foram pesados em um erlenmeyer de 125 mL, o qual foi envolvido com papel alumínio para proteger da luz, 50 mL de uma mistura de hexano/acetona/etanol (2:1:1, v/v/v) foi adicionada para solubilizar os carotenóides. As amostras foram agitadas por 30 minutos, transferidas para um funil de separação, então, foram adicionados 10 mL de água destilada. A solução foi separada em uma fração polar (35 mL) e uma fração apolar (25 mL), a última contendo licopeno. O resíduo da extração não apresentava coloração. O conteúdo de licopeno foi obtido pela leitura da absorbância da solução em hexano a 472 nm, utilizando-se o hexano como branco. A conversão da absorbância em concentração de licopeno foi baseada no coeficiente de extinção específico para o pigmento em hexano (3.450) (GROSS, 1987). Os resultados foram expressos em miligramas de licopeno por 100 g de amostra.

4.4 Liofilização das amostras

As preparações e produtos de tomate, descritas anteriormente, foram encaminhados para o Laboratório de Liofilização da Faculdade de Ciências Farmacêuticas da USP, onde foram submetidos ao processo de liofilização. O material obtido a partir deste processo foi triturado até a obtenção de uma “farinha” e colocado em frascos âmbar sob atmosfera de nitrogênio, sendo armazenado em *freezer* a -18°C , até a realização de cada uma das determinações descritas a seguir.

4.5 Obtenção dos extratos

Os extratos etéreo, etanólico e aquoso foram obtidos a partir das amostras liofilizadas, por meio do processo de extração sequencial para frutos (Esquema 1), de acordo com SOTERO (2002).

Foram pesados 2,5 gramas da amostra, à qual foram adicionados 50 mL de éter etílico e agitando-se em homogeneizador magnético por uma hora à temperatura ambiente e ao abrigo da luz. Em seguida, a solução foi filtrada em funil de *Büchner* e o volume completado até 50 mL com éter etílico. Os resíduos foram recuperados por meio da secagem em capela, à temperatura ambiente e ao abrigo da luz por duas horas, posteriormente foram pesados para calcular-se o volume de solvente necessário para alcançar a proporção de 1:20. Para a obtenção dos demais extratos, alcoólico e aquoso, foi adotado o mesmo procedimento para a obtenção do extrato etéreo. Os extratos foram colocados em frascos âmbar, sob atmosfera de nitrogênio e armazenados em *freezer* a -18°C para a realização das respectivas análises.

As extrações foram realizadas em duplicatas para cada amostra.

Esquema 1. Fluxograma de obtenção dos extratos etéreo, alcoólico e aquoso a partir da amostra liofilizada.

Todos os passos apresentados (Esquema 1) foram realizados ao abrigo da luz e na temperatura ambiente.

4.5.1 Determinação do teor de resíduo seco dos extratos

A determinação do teor de resíduo seco dos extratos teve por objetivo avaliar o teor de sólidos solúveis nos extratos. Para tal utilizou-se vidros-relógio, que foram colocados em estufa a 105°C, resfriados no dessecador e tarados. Em seguida, transferiu-se 1 mL de extrato de cada amostra para os vidros-relógio tarados, que foram colocados em estufa a 105°C para a evaporação total do solvente. Em seguida os vidros-relógio foram resfriados no dessecador e pesados até peso constante (AOAC, 1995). O resultado foi expresso em mg/mL do extrato.

4.5.2 Determinação do teor de compostos antioxidantes nos extratos

A determinação do teor de compostos antioxidantes nos extratos, envolveu a quantificação dos seguintes compostos:

- Fenólicos totais: foi realizada a partir de 0,25 mL dos extratos alcoólico e aquoso, de acordo com ZIELISKI e KOZOWSKA (2000) com pequenas modificações, conforme descrito no item 4.3 (g).
- Ácido ascórbico: foi realizada a partir de 2 mL do extrato aquoso, conforme descrito no item 4.3 (f) (PREGNOLATTO e PREGNOLATTO, 1985).

4.6 Testes de Atividade Antioxidante *in vitro*

Os extratos etéreo, etanólico e aquoso foram submetidos à dois diferentes métodos, com vistas à avaliação da atividade antioxidante e são descritos a seguir:

- Teste do DPPH: a capacidade das amostras de sequestrar radicais livres foi medida utilizando-se o método descrito por BRAND-WILLIAMS et al. (1995), com modificações. Este método baseia-se na remoção do radical estável DPPH (1,1-difenil-2-picrilhidrazil) do meio de reação pela ação dos antioxidantes presentes na amostra. O grau de descoloração do radical DPPH a 517 nm, após a

adição da amostra, foi medido espectrofotometricamente em uma solução metanólica até a absorbância permanecer constante e indicar a eficiência da amostra adicionada em remover o radical.

As amostras foram diluídas em metanol nas concentrações 0,1 mg/mL e 0,2 mg/mL e, no caso do padrão (BHT), as concentrações foram de 0,05 e 0,1 mg/mL.

Uma alíquota de 1,5 mL da solução metanólica do radical DPPH (Sigma) a 20 mg/L em metanol foi acrescentada a 750 µL dos extratos etéreo, etanólico ou aquoso das amostras em diferentes concentrações (0,1 e 0,2 mg/mL) ou 750 µL do padrão BHT dissolvido em metanol (0,05 e 0,1 mg/mL). O metanol foi utilizado, no lugar da amostra, como controle. O decréscimo da absorbância a 517 nm foi acompanhado em espectrofotômetro em diferentes intervalos de tempo (0, 1, 2, 3, 4, 5 minutos e a cada 5 minutos até completar 20 minutos de reação). Os respectivos brancos das amostras e do padrão foram preparados utilizando-se uma alíquota de 750 µL do extrato ou da solução de BHT, diluídos nas concentrações utilizadas no teste, e 1,5 mL de metanol.

A atividade de seqüestro do radical DPPH foi calculada pela equação abaixo:

$$\% \text{ de Descolação do DPPH} = \frac{[1 - (\text{Absorbância da amostra} - \text{Absorbância do branco da mesma})]}{\text{Absorbância do branco do ensaio do DPPH}} \times 100$$

As soluções foram preparadas diariamente.

- Sistema β-caroteno/ácido linoléico: a avaliação da atividade antioxidante foi realizada por meio de um ensaio espectrofotométrico baseado na descoloração (oxidação) do β-caroteno induzida pelos produtos de degradação oxidativa de um ácido graxo (ácido linoléico), segundo procedimento descrito por MELO e MANCINI-FILHO (1989).

Foi utilizado como substrato uma emulsão de β-caroteno e ácido linoléico. Para o preparo da emulsão utilizou-se β-caroteno diluído em clorofórmio (20 mg/mL), ao qual adicionou-se 20 mg de ácido linoléico e 200 mg de *Tween* 40 (utilizado como emulsificante). Após o clorofórmio ter sido

evaporado sob atmosfera de nitrogênio, aproximadamente 100 mL de água oxigenada (água destilada tratada com O₂ durante 30 minutos) foi adicionada. No tubo de ensaio, 5 mL desta emulsão foi adicionada a 1 mL da diluição adequada dos extratos (concentrações dos extratos: etéreo 1,25 x 10⁻² e 2,5 x 10⁻² mg/mL; etanólico e aquoso 0,5 e 1,0 mg/mL). Após ser homogeneizada, a leitura foi realizada em espectrofotômetro a 470 nm, sendo esta a leitura do tempo zero (tempo inicial). Os tubos foram posteriormente colocados no banho-maria a 50°C e as demais leituras seqüenciais foram realizadas a cada 15 minutos por um período (total) de 2 horas. O BHT foi utilizado como padrão. Para o cálculo das percentagens de inibição da oxidação, foram utilizados os seguintes cálculos:

$$D.O. \text{ inicial} - D.O. \text{ final} = 100\% \text{ da oxidação}$$

Onde D.O. = densidade óptica do controle (a emulsão sem o extrato e sem BHT).

Correlacionou-se a queda na leitura da densidade óptica das amostras com o controle e foi estabelecida a porcentagem de inibição da oxidação lipídica a partir da subtração da porcentagem da oxidação de cada amostra de 100, segundo a fórmula abaixo:

$$\%AA = 100 - \frac{(\text{decaimento da absorbância da amostra})}{(\text{decaimento da absorbância do controle})} \times 100$$

Onde:

%AA = porcentagem da atividade antioxidante (inibição da oxidação)

Todas as soluções e emulsões foram preparadas diariamente. Os resultados foram expressos em porcentagem (%) de inibição da oxidação.

4.7 Análise de resíduos de pesticidas

As amostras foram encaminhadas para o Laboratório de Resíduos de Pesticidas da ESALQ (*campus* USP de Piracicaba), onde foram analisados os resíduos de pesticidas pertencentes aos seguintes grupos químicos: fosforados, piretróides, triazóis, clorados, dicarboximidas e mistelas; carbamatos; benzimidazóis e ditiocarbamatos. As determinações foram realizadas por meio de cromatografia de permeação em gel (GPC), cromatografia gasosa (GC) e cromatografia líquida (LC) (MCGARVEY et al. 1986; OHLIN e JANSSON, 1998; ANDERSSON e PALSHEDE, 1998).

4.8 Análise dos resultados

Para avaliar os resultados da atividade antioxidante, dos teores de ácido ascórbico, de fenólicos totais e de licopeno e das variáveis físico-químicas (atividade de água, pH, sólidos solúveis, umidade e cor) foi adotado o modelo de análise de variância univariada (ANOVA) (NETER et al, 1996).

Nos casos em que a igualdade de médias foi rejeitada, realizaram-se comparações múltiplas e foram definidos intervalos de confiança. Para verificar as diferenças entre médias adotou-se o método de Tukey (NETER et al., 1996). Em todas as análises descritas anteriormente, considerou-se um nível de significância de 5%. Os intervalos foram construídos com 95% de confiança global.

Para a análise de cada uma das medidas físico-químicas e para os teores ácido ascórbico, fenólicos totais e licopeno, todas as suposições foram satisfeitas, ajustou-se, então, um modelo ANOVA (Modelo 1 - ANEXO 1) e foi identificada a presença de interação entre tipo de tomate e extrato para todas as variáveis analisadas ($p < 0,05$). Desse modo, foram realizadas comparações múltiplas a fim de identificar as diferenças existentes entre as médias, pelo método de Tukey.

Para a análise da variável teor de ácido ascórbico no extrato aquoso, inicialmente verificou-se, por meio de uma análise de resíduos, que a suposição de homocedasticidade para o modelo ajustado (Modelo 2 - ANEXO 2) não estava

satisfeita. Realizou-se, então, uma transformação logarítmica ($\log_{10}$) dos dados e um novo ajuste foi realizado, segundo o Modelo 3 (ANEXO 2) e foi detectada interação entre tipo de tomate e produto, assim, foram realizadas as comparações múltiplas.

Para a análise do teor de fenólicos totais nos extratos alcoólico e aquoso, todas as suposições sobre o modelo foram satisfeitas. O modelo apresentado incluiu o parâmetro de interação entre tipo de tomate e extrato (Modelo 3 – ANEXO 4).

Considerou-se um modelo de ANOVA para analisar a variável antioxidante pelo método DPPH (Modelo 6 – ANEXO 4). A partir do gráfico de probabilidade normal dos resíduos, pode-se observar que a suposição de normalidade não estava satisfeita. Assim, aplicou-se a transformação logarítmica ($\log_{10}$) aos dados, a qual contornou este problema. O modelo completo para a variável logaritmo da atividade antioxidante (Modelo 7) é apresentado no ANEXO 4.

Ao ajustar-se um modelo de ANOVA para a variável antioxidante pelo método β -caroteno/ácido linoléico (Modelo 8 – ANEXO 5), verificou-se que todas as suposições requeridas foram satisfeitas. No modelo selecionado (Modelo 9 – ANEXO 5) estão presentes três interações de primeira ordem a saber: tipo de tomate e produto, tipo de tomate e extrato, extrato e concentração. Assim, foram estabelecidas as respectivas comparações entre as diferenças das médias.

5. RESULTADOS E DISCUSSÃO

5.1 Caracterização das amostras

O Programa Brasileiro para Melhoria dos Padrões Comerciais e de Embalagens de Hortigranjeiros da Secretaria de Agricultura e Abastecimento do Estado de São Paulo em conjunto com a Companhia de Entrepósitos e Armazéns Gerais de São Paulo (CEAGESP), determinou a padronização das hortaliças e frutas comercializadas nos seguintes aspectos: grau de coloração, formato, calibres, defeitos, embalagens. A partir desta classificação, ANDREUCCETTI et al. (2004) avaliaram se as normas estabelecidas pelo referido Programa eram cumpridas para o tomate cultivar Carmem. Os autores observaram que, apesar da classificação ser uma operação praticada por todos os atacadistas da CEAGESP, geralmente, em uma mesma caixa de tomate havia uma grande mistura de padrões de coloração e tamanho.

Conforme as observações de ANDREUCCETTI et al. (2004), constatou-se grande variabilidade entre a coloração dos frutos adquiridos para a realização da presente pesquisa. Embora tenha sido solicitado aos produtores de tomates (orgânico e convencional) colherem os frutos no ponto “salada”, nota-se que tal classificação não é capaz de estabelecer uma coloração uniforme para os frutos.

Devido à variação ocorrida entre os resultados dos dois lotes de uma mesma amostra, acrescentou-se nos modelos estatísticos (descritos nos Anexos 1, 2, 3, 4 e 5) o efeito do lote para comparar as diversas amostras. Desse modo, embora os resultados apresentados a seguir estejam separados para cada um dos lotes (lote 1 e lote 2), as comparações foram estabelecidas em termos de amostras (por exemplo: tomate inteiro orgânico *versus* tomate inteiro convencional), levando-se em consideração os dois lotes analisados. Para exemplificar tal variabilidade entre lotes, apresenta-se a seguir (Tabela 1) os resultados de algumas determinações físico-químicas realizadas para o tomate *in natura* inteiro.

Tabela 1. Características físico-químicas do tomate *in natura* cultivar Carmem produzido por cultivo orgânico e convencional.

Determinações	Lote	Convencional*	Orgânico*
Sólidos solúveis totais (°Brix)	1	4,00 ± 0,00	4,20 ± 0,00
	2	4,17 ± 0,29	4,50 ± 0,00
pH	1	4,16 ± 0,13	4,09 ± 0,19
	2	3,76 ± 0,52	3,90 ± 0,03
Cor (°h)	1	46,39 ± 0,26	54,78 ± 2,88
	2	45,75 ± 0,98	71,98 ± 1,24
Ácido ascórbico (mg/100g)	1	19,57 ± 0,38	26,45 ± 0,00
	2	25,80 ± 0,00	32,25 ± 0,00
Fenólicos Totais (mg/100g)	1	163,79 ± 4,76	210,05 ± 7,43
	2	143,17 ± 9,40	196,43 ± 5,93
Licopeno (mg/100g)	1	1,54 ± 0,05	1,79 ± 0,05
	2	2,09 ± 0,31	1,53 ± 0,02

*Os valores representam médias ± desvio-padrão obtidos por meio de 3 determinações de sólidos solúveis totais, cor, pH, ácido ascórbico, fenólicos totais e licopeno.

De acordo com os resultados apresentados na Tabela 1, pode-se observar, tanto para o cultivo orgânico quanto para o convencional, que a variação entre as repetições é relativamente baixa, porém, a variação entre os lotes é elevada.

5.1.1 Análises físico-químicas

Os resultados das análises físico-químicas, em base úmida, são apresentados a seguir.

As estimativas das diferenças de médias entre tipos de preparo (inteiro, sem pele, sem semente, molho e purê) e entre tipos de cultivo (convencional e orgânico) são mostrados nas Tabelas 2 a 6, para todas as variáveis físico-químicas (atividade de água, sólidos solúveis, umidade, pH e cor).

5.1.1.1 Atividade de água

Na Tabela 2, são apresentados os resultados da atividade de água (Aw) das amostras.

Tabela 2. Atividade de água (Aw) dos diferentes tipos de preparações e produtos de tomate obtidos por cultivo convencional e orgânico.

Tipo de Preparo	Lote	Convencional*	Orgânico*
Inteiro	1	$0,97 \pm 0,01^{ab\ A}$	$0,97 \pm 0,00^a\ A$
	2	$0,97 \pm 0,00$	$0,97 \pm 0,01$
Sem pele	1	$0,97 \pm 0,00^a\ A$	$0,97 \pm 0,00^a\ A$
	2	$0,97 \pm 0,01$	$0,97 \pm 0,00$
Sem semente	1	$0,97 \pm 0,00^a\ A$	$0,98 \pm 0,00^a\ A$
	2	$0,97 \pm 0,00$	$0,97 \pm 0,01$
Molho	1	$0,98 \pm 0,01^{b\ A}$	$0,96 \pm 0,00^{ab\ B}$
	2	$0,99 \pm 0,00$	$0,97 \pm 0,00$
Purê	1	$0,98 \pm 0,00^{ab\ A}$	$0,95 \pm 0,00^{b\ B}$
	2	$0,98 \pm 0,00$	$0,96 \pm 0,01$

*Os valores representam médias $\pm$ desvio padrão obtidos por meio de 3 determinações de atividade de água.

**Valores com letras minúsculas iguais na mesma coluna, considerando-se o modo de preparo, indicam que não houve diferença estatisticamente significativa entre as médias ao nível de 5%.

**Valores com letras maiúsculas iguais na mesma linha, considerando-se o modo de cultivo, indicam que não houve diferença estatisticamente significativa entre as médias ao nível de 5%.

Com base nos resultados da Tabela 2, para o tomate convencional, não houve diferença significativa entre a atividade de água das amostras, com exceção do molho, que apresentou valores médios significativamente maiores que o tomate sem pele e sem semente.

No caso do tomate orgânico (Tabela 2), em geral, não houve diferença significativa entre os valores médios de atividade de água diferentes tipos de preparo, com exceção do purê, que apresentou valor médio significativamente menor que o

fruto inteiro, sem pele e sem semente.

Comparando-se os tipos de cultivo, na Tabela 2 são apresentadas as diferenças entre médias de convencional e orgânico. Observa-se que o tomate orgânico, preparado como molho e purê, apresentou valor médio de atividade de água significativamente menor que o tomate convencional. Para as demais preparações não houve diferença significativa.

5.1.1.2 Sólidos solúveis totais

Os resultados das determinações do teor de sólidos solúveis totais (°Brix) das amostras são apresentados a seguir (Tabela 3).

Tabela 3. Teor de sólidos solúveis totais (°Brix) dos diferentes tipos de preparações e produtos de tomate obtidos por cultivo convencional e orgânico.

Tipo de Preparo	Lote	Convencional*	Orgânico*
Inteiro	1	4,00 ± 0,00 ^{a A}	4,20 ± 0,00 ^{a A}
	2	4,17 ± 0,29	4,50 ± 0,00
Sem pele	1	4,33 ± 0,29 ^{a A}	4,00 ± 0,00 ^{a A}
	2	4,00 ± 0,00	4,00 ± 0,00
Sem semente	1	4,17 ± 0,29 ^{a A}	4,50 ± 0,00 ^{a A}
	2	4,50 ± 0,00	4,50 ± 0,00
Molho	1	11,07 ± 0,06 ^{b A}	11,00 ± 0,00 ^{b A}
	2	9,73 ± 0,06	10,67 ± 0,29
Purê	1	7,97 ± 0,06 ^{c A}	11,00 ± 0,00 ^{b B}
	2	9,80 ± 0,00	11,00 ± 0,00

* Os valores representam médias ± desvio padrão obtidos por meio de 3 determinações de sólidos solúveis totais.

**Valores com letras minúsculas iguais na mesma coluna, considerando-se o modo de preparo, indicam que não houve diferença estatisticamente significativa entre as médias ao nível de 5%.

**Valores com letras maiúsculas iguais na mesma linha, considerando-se o modo de cultivo, indicam que não houve diferença estatisticamente significativa entre as médias ao nível de 5%.

Com relação ao teor de sólidos solúveis, no caso do tomate convencional (Tabela 3), o molho apresentou valor médio significativamente maior que o purê e as preparações. O purê apresentou teor significativamente maior que as preparações. Os dados obtidos para os tomates inteiros, sem pele e sem semente não apresentaram diferenças estatisticamente significativas.

Para o tomate orgânico (Tabela 3), não houve diferença significativa entre o molho e o purê, sendo que ambos apresentaram teores médios significativamente maiores que os demais tipos de preparo adotados, como esperado. Nas comparações entre as preparações, não foram identificadas diferenças significativas.

O tomate orgânico na forma de purê apresentou conteúdo de sólidos solúveis significativamente maior, quando comparado ao convencional. Para os demais tipos de preparo não houve diferença significativa entre os dados obtidos para os dois modos de cultivo (Tabela 3).

Os sólidos solúveis totais representam a percentagem (em peso) de sólidos que se encontram dissolvidos no alimento. São registrados em °Brix, no caso de frutas, e têm a tendência de exibir maior concentração com a evolução da maturação, devido aos processos de biossíntese ou ainda pela degradação de polissacarídeos. Segundo CHITARRA e CHITARRA (1990), o referido parâmetro físico-químico representa uma das melhores formas de avaliação do grau de doçura do produto.

BORGUINI (2003) registrou que o tomate cultivar Carmem produzido convencionalmente revelou teor mais elevado de sólidos solúveis totais (4,7°Brix), quando comparado ao fruto cultivado organicamente (4,2°Brix). No entanto, análises da cultivar Débora, revelaram o mesmo valor de sólidos solúveis totais (4,9°Brix) para os dois tipos de cultivo, valor inferior ao (5,43°Brix) obtido por ANESE et al. (2002). MARTINEZ-VALVERDE et al. (2002), que avaliaram nove cultivares de tomate produzidos na Espanha, registraram teores de sólidos solúveis totais entre 4,0 e 7,5°Brix. De acordo com TAKEOTA et al. (2001), o teor de sólidos solúveis totais para diversas cultivares de tomate variou entre 5 e 7°Brix, sendo a frutose e a glicose os açúcares predominantes.

Durante a maturação do tomate, ocorrem a hidrólise do amido da polpa e o aparecimento de quantidades praticamente idênticas de glicose e frutose e de muito

pouca sacarose. Os ácidos cítricos (cerca de 2/3) e málico (1/3) são os principais ácidos presentes no fruto (AWAD, 1993).

TAVARES e RODRIGUEZ-AMAYA (1994) avaliaram conteúdo de sólidos solúveis totais dos frutos de tomate cultivar Santa Clara e de purê (marcas comerciais) comercializados em Campinas-SP e obtiveram valores entre 3,8 a 4,6°Brix e 8 a 11°Brix, respectivamente.

LAVELLI et al. (2000) encontraram valores de 6,2 e 5,9°Brix para dois cultivares de tomate, no caso do purê foram obtidos 10,3 e 11,6°Brix. THOMPSON et al. (2000) registraram teores de 4,18 a 5,0°Brix para diversos cultivares de tomate.

TOOR et al. (2006) não identificaram diferença significativa entre os teores de sólidos solúveis totais de tomates cultivados mediante adoção de diferentes tipos de fertilizantes (orgânico e convencional).

Portanto, observa-se grande variação entre os resultados de sólidos solúveis totais obtidos a partir dos diversos estudos. A fonte desta variação pode residir nas características da amostra.

5.1.1.3 Umidade

Os resultados das determinações dos teores de umidade das amostras estão reunidos na Tabela 4.

Tabela 4. Teor de umidade, expresso em percentagem (%) de água, dos diferentes tipos de preparações e produtos de tomate obtidos por cultivo convencional e orgânico.

Tipo de Preparo	Lote	Convencional*	Orgânico*
Inteiro	1	95,73 ± 0,04 ^{a A}	95,63 ± 0,06 ^{a A}
	2	95,41 ± 0,08	95,25 ± 0,13
Sem pele	1	95,82 ± 0,04 ^{a A}	96,05 ± 0,02 ^{a A}
	2	95,88 ± 0,02	95,82 ± 0,01
Sem semente	1	95,56 ± 0,05 ^{a A}	95,34 ± 0,01 ^{a A}
	2	95,18 ± 0,02	95,11 ± 0,06
Molho	1	89,95 ± 0,19 ^{b A}	89,48 ± 0,18 ^{b A}
	2	90,88 ± 0,01	89,64 ± 0,07
Purê	1	92,70 ± 0,10 ^{c A}	90,89 ± 0,20 ^{c B}
	2	90,92 ± 0,06	90,87 ± 0,09

* Os valores representam médias ± desvio padrão obtidos por meio de 2 determinações de umidade.

**Valores com letras minúsculas iguais na mesma coluna, considerando-se o modo de preparo, indicam que não houve diferença estatisticamente significativa entre as médias ao nível de 5%.

**Valores com letras maiúsculas iguais na mesma linha, considerando-se o modo de cultivo, indicam que não houve diferença estatisticamente significativa entre as médias ao nível de 5%.

Tanto para o tomate convencional quanto para o orgânico (Tabela 4), os produtos molho e purê apresentaram percentuais médios de umidade significativamente menores que os demais, como é característico para estes produtos.

O purê orgânico apresentou percentual médio de umidade significativamente menor que o purê convencional. Para as demais amostras não foram observadas diferenças significativas entre os teores de umidade (Tabela 4).

Quando se comparou cultivo orgânico e convencional, o purê orgânico apresentou teor de sólidos solúveis totais significativamente maior que o purê convencional, o que condiz com sua menor porcentagem de umidade. TOOR et al. (2006) não observaram diferenças significativas entre os teores de umidade de tomates que receberam adubação orgânica e convencional.

O tomate Débora cultivado organicamente no estado de São Paulo (BORGUINI, 2003) apresentou o teor de umidade próximo ao descrito por LUENGO et al. (2000) (93,73%) para o tomate nacional. MARTINEZ-VALVERDE et al. (2002) obtiveram teores de umidade entre 93,42 e 94,73% para nove cultivares de tomate produzidas na Espanha. SAHLIN et al. (2004) observaram 94,7% de umidade para o tomate cultivar Excell produzido em sistema hidropônico na Nova Zelândia. GIOVANELLI et al. (2002) registraram teor de 94,4% de umidade para tomates *in natura*. Na tabela de composição de alimentos do USDA (2004) o teor de umidade registrado para o tomate é de 94,5%. CANO et al. (2003) identificaram teor de umidade de 95% para tomates em diferentes estágios de maturação. Assim, pode-se observar uma variação no teor de umidade dos frutos em função das cultivares, local e condições de cultivo.

Embora a matéria seca dos tomates possa variar de valores abaixo de 5% até próximo ao dobro deste valor, para a maioria das variedades de tomate este valor situa-se entre 5 e 7,5%. Deste teor de matéria seca, aproximadamente 50% encontra-se na forma de açúcares redutores, contendo um pouco mais de frutose do que de glicose. Um quarto da matéria seca consiste principalmente dos ácidos cítrico e málico, de lipídios e da maioria dos minerais (DAVIES e HOBSON, 1981).

5.1.1.4 Potencial hidrogeniônico (pH)

Os valores das determinações de pH das amostras são apresentados a seguir (Tabela 5).

Tabela 5. Valores médios de pH dos diferentes tipos de preparações e produtos de tomate obtidos por cultivo convencional e orgânico.

Tipo de Preparo	Lote	Convencional*	Orgânico*
Inteiro	1	4,16 ± 0,13 ^{ab A}	4,09 ± 0,19 ^{a A}
	2	3,76 ± 0,52	3,90 ± 0,03
Sem pele	1	3,98 ± 0,07 ^{ab A}	3,95 ± 0,08 ^{a A}
	2	4,11 ± 0,08	3,87 ± 0,10
Sem semente	1	3,94 ± 0,03 ^{a A}	3,89 ± 0,09 ^{a A}
	2	4,34 ± 0,07	4,01 ± 0,05
Molho	1	3,73 ± 0,02 ^{b A}	4,49 ± 0,24 ^{b B}
	2	3,71 ± 0,02	4,37 ± 0,45
Purê	1	3,82 ± 0,06 ^{ab A}	4,66 ± 0,07 ^{b B}
	2	3,67 ± 0,03	4,28 ± 0,29

* Os valores representam médias ± desvio padrão obtidos por meio de 3 determinações de pH.

**Valores com letras minúsculas iguais na mesma coluna, considerando-se o modo de preparo, indicam que não houve diferença estatisticamente significativa entre as médias ao nível de 5%.

**Valores com letras maiúsculas iguais na mesma linha, considerando-se o modo de cultivo, indicam que não houve diferença estatisticamente significativa entre as médias ao nível de 5%.

Para o tomate convencional (Tabela 5), o molho apresentou valor médio de pH significativamente menor que aquele do tomate sem semente, ao passo que para as demais comparações, nenhuma diferença significativa foi encontrada. Para o tomate orgânico (Tabela 5), os produtos molho e purê apresentaram valores médios de pH significativamente maiores que inteiro, sem pele e sem semente, para as demais comparações, nenhuma diferença significativa foi observada.

Mediante a comparação entre os tipos de cultivo (convencional e orgânico), o tomate orgânico, na forma de molho e purê, apresentou pH médio significativamente maior que o tomate convencional, para as preparações não houve diferença significativa.

Vale registrar que o purê orgânico, que apresentou pH elevado, apresentou também o maior teor de sólidos solúveis totais e a menor porcentagem de umidade. Tais informações são concordantes ao caracterizar físico-quimicamente o produto,

indicando que o mesmo, provavelmente, possui maior teor de açúcares e menor teor de ácidos orgânicos (cítrico e málico).

De modo geral, os valores de pH obtidos foram semelhantes para os frutos provenientes dos dois tipos de cultivo. A acidez e o pH são fatores de reconhecida importância quando se analisa o nível de aceitação de um produto.

DAVIES e HOBSON (1981) registraram alguns fatores que podem afetar o pH dos tomates: a genética; o grau de maturação, ocorrendo o aumento do pH com a maturidade; localização da cultura; época de produção; incidência de apodrecimento e injúrias e; disfunções no amadurecimento.

De acordo com CHITARRA e CHITARRA (1990), os ácidos orgânicos encontram-se dissolvidos nos vacúolos das células, tanto na forma livre, como combinada, formando sais, ésteres e glicosídeos. Em frutas, os ácidos orgânicos não só contribuem para a acidez como também para o sabor e aroma característico.

TOOR et al. (2006) obtiveram valores de pH 4,4 e 3,9, respectivamente, para tomates que receberam adubação convencional e orgânica. ANESE et al. (2002) identificaram valor de pH de 4,25 para o tomate. THOMPSON et al. (2000) registraram pH entre 3,91 e 4,34 para diversas cultivares de tomate.

TAVARES e RODRIGUEZ-AMAYA (1994) avaliaram o pH de tomate cultivar Santa Clara e de purê (marcas comerciais) comercializados em Campinas (SP), obtendo os valores 4,4 a 4,6 e 4,0 a 4,4, respectivamente.

5.1.1.5 Cor

A cor dos tomates é um fator de mercado muito importante, que afeta a decisão de compra do consumidor, sendo também um atributo de qualidade muito considerado pela indústria de produtos de tomate.

Os resultados das determinações do ângulo de cor ($^{\circ}$ h) das amostras são mostrados a seguir (Tabela 6).

Tabela 6. Valores médios para o ângulo de cor (°h) dos diferentes tipos de preparações e produtos de tomate obtidos por cultivo convencional e orgânico.

Tipo de Preparo	Lote	Convencional*	Orgânico*
Inteiro	1	46,39 ± 0,26 ^{a A}	54,78 ± 2,88 ^{a B}
	2	45,75 ± 0,98	71,98 ± 1,24
Sem pele	1	54,48 ± 0,86 ^{ac A}	65,71 ± 0,38 ^{a B}
	2	50,74 ± 4,69	66,24 ± 0,37
Sem semente	1	38,08 ± 1,98 ^{b A}	47,95 ± 1,37 ^{b B}
	2	38,85 ± 1,12	49,06 ± 2,27
Molho	1	54,45 ± 1,04 ^{c A}	51,98 ± 0,67 ^{b A}
	2	56,69 ± 0,87	57,44 ± 2,80
Purê	1	54,64 ± 3,07 ^{ac A}	50,38 ± 0,29 ^{b A}
	2	48,59 ± 1,21	50,65 ± 0,23

* Os valores representam médias ± desvio padrão obtidos por meio de 3 determinações de ângulo de cor (°h).

**Valores com letras minúsculas iguais na mesma coluna, considerando-se o modo de preparo, indicam que não houve diferença estatisticamente significativa entre as médias ao nível de 5%.

**Valores com letras maiúsculas iguais na mesma linha, considerando-se o modo de cultivo, indicam que não houve diferença estatisticamente significativa entre as médias ao nível de 5%.

As leituras dos valores foram sistematizadas adotando-se modelo matemático para C e h, em que “C” é a cromaticidade e “h” a tonalidade. ALMEIDA (1995) observou que L, h e C correlacionava-se bem com a percepção dos provadores no que se refere à cor definida em análise sensorial.

O parâmetro “h” define a coloração básica das amostras e representa a tonalidade média das amostras de tomates (McGUIRRE, 1992). Quanto maior o ângulo de cor (°h) obtido, significa que a cor do fruto está mais próxima do verde e quanto menor o ângulo, a cor se aproxima do vermelho. Um ângulo de 180° representa o verde puro e um ângulo de 0° o vermelho puro.

THOMPSON et al. (2000) demonstraram, analisando diversas cultivares de tomate, que os valores das medições colorimétricas obtidos a partir do homogenato de tomate podem apresentar melhor correlação com o conteúdo de licopeno, do que

os valores obtidos por meio de medições na superfície do fruto. Desse modo, as medições de cor da presente pesquisa foram realizadas a partir do homogenato das amostras.

Com relação à cor (Tabela 6), o tomate convencional sem semente apresentou ângulo médio significativamente menor que os demais tipos de preparo, sendo, portanto, a amostra mais vermelha. O molho convencional apresentou ângulo médio significativamente maior que o tomate inteiro, apresentando-se assim, menos vermelho. Para as demais comparações não houve diferenças significativas.

Para o cultivo orgânico (Tabela 6), as preparações “inteiro” e “sem pele” apresentaram ângulos médios significativamente maiores que os demais tipos de preparo, revelando-se as amostras menos vermelhas. Para as demais comparações não houve diferença significativa.

Quanto aos dois tipos de cultivo (Tabela 6), o tomate orgânico nas formas inteiro, sem pele e sem semente, apresentou ângulo de cor significativamente maior que o tomate convencional, para os demais produtos não houve diferenças significativas entre as médias. Portanto, os tomates convencionais apresentavam-se mais vermelhos.

Os frutos de tomate orgânicos e convencionais foram obtidos junto ao comercializador, quando apresentavam o grau de maturação denominado “salada” (CEAGESP, s.d.), ou seja, não estavam completamente vermelhos, mantendo algumas partes verdes e/ou alaranjadas. No entanto, as medições de cor foram realizadas um dia após a aquisição dos frutos, neste período observou-se que os tomates convencionais amadureceram mais rapidamente, alcançando a cor vermelha, enquanto os frutos orgânicos apresentaram pequena alteração na coloração no decorrer do mesmo período. Tal comportamento dos frutos, provavelmente, ocasionou a diferença registrada para o ângulo de cor obtido para as amostras.

Segundo ESKIN (1989), com o objetivo de conferir resistência aos frutos de tomate para enfrentar o rigor do manuseio e transporte, os frutos são geralmente colhidos no estágio de maturação anterior ao que alcança a qualidade sensorial

completa. De acordo com AWAD (1993), as cores do fruto surgem na seguinte sequência: amarela, laranja e vermelha. Quando a cor vermelha ocupa aproximadamente de 30% a 60% da superfície do fruto, ocorre o pico climatérico da respiração. A perda da cor verde e o aparecimento da vermelha são critérios utilizados para avaliar o grau de maturidade do fruto de tomate.

Quando alcança o amadurecimento, o tomate produz uma cor vermelha típica, que é associada com o alcance de qualidade sensorial desejável. A cor vermelha do tomate é, portanto, um bom indicador de qualidade. Normalmente durante o amadurecimento a cor verde do tomate desaparece, devido à degradação da clorofila, pela atividade da clorofilase, o processo é acompanhado pela simultânea produção de carotenóides, principalmente licopeno, β -caroteno e algumas xantofilas. A temperatura é um importante fator ambiental no desenvolvimento da cor do tomate. Temperatura acima de 30°C são inibidoras para a síntese de licopeno, embora não afete a síntese de β -caroteno (ESKIN, 1989).

No estudo de ISHIDA e CHAPMAN (2004), amostras de *ketchup* orgânico foram avaliadas como significativamente mais vermelhas do que as amostras do produto convencional.

ANESE et al. (2002) obtiveram um ângulo de cor de 65,9 para a polpa de tomate peneirada, após o processamento térmico a 120°C, o ângulo foi de 56,3, valor próximo aos obtidos na presente pesquisa para os produtos tratados termicamente.

Segundo ALMEIDA (1995), quatro estágios de tonalidade, representados pela identificação do ângulo de cor, podem ser observados em tomate. O estágio inicial é identificado pelo fato do tomate revelar um ângulo de cor maior, que ocorre durante o período entre o primeiro e o quinto dia de maturação; o estágio intermediário-I envolve o período do oitavo ao décimo dia, quando o tomate apresenta ângulo de cor decrescente; o estágio intermediário-II, do décimo segundo ao décimo sétimo dia, passando por suave transição para o estágio final. Nesse último estágio (últimos dias do período de maturação) o tomate apresenta o menor ângulo de cor. De acordo com a classificação apresentada por ALMEIDA (1995), pode-se dizer que os frutos analisados encontravam-se no estágio inicial de tonalidade.

Todos parâmetros físico-químicos citados anteriormente têm um importante papel no perfil sensorial dos frutos de tomate. Além do sabor e aroma de tomate que reflete, em parte, a contribuição dos compostos aromáticos voláteis do fruto, o teor de sólidos solúveis totais e o pH são mais relevantes para os atributos de sabor do que para o valor nutricional do tomate.

5.1.2 Compostos Antioxidantes

Os teores de compostos antioxidantes (ácido ascórbico, fenólicos totais e licopeno) foram expressos em base úmida, por ser a forma em que os alimentos são adquiridos e consumidos pela população. A comparação da composição dos tomates e seus produtos na base úmida é essencial, quando se considera o valor nutricional do produto.

5.1.2.1 Ácido ascórbico

Na Tabela 7, são apresentados os teores de ácido ascórbico das amostras.

Tabela 7. Teor de ácido ascórbico, expresso em mg/100g (base úmida) e em percentagem em relação ao teor de sólidos solúveis totais (% / SST), dos diferentes tipos de preparações e produtos de tomate obtidos por cultivo convencional e orgânico.

Tipo de Preparo	Lote	Convencional* (mg/100g)	Orgânico* (mg/100g)	Convencional (% / SST)	Orgânico (% / SST)
Inteiro	1	19,57 ± 0,38 ^{ab A}	26,45 ± 0,00 ^{a B}	0,49	0,63
	2	25,80 ± 0,00	32,25 ± 0,00	0,62	0,72
Sem pele	1	26,88 ± 0,37 ^{a A}	32,25 ± 0,00 ^{a A}	0,62	0,81
	2	26,88 ± 0,37	26,45 ± 0,65	0,67	0,66
Sem semente	1	25,80 ± 0,65 ^{a A}	26,02 ± 0,38 ^{ab A}	0,62	0,58
	2	26,23 ± 0,75	30,10 ± 1,86	0,58	0,67
Molho	1	18,49 ± 0,75 ^{b A}	25,16 ± 0,65 ^{ab B}	0,17	0,23
	2	18,92 ± 0,75	26,66 ± 0,37	0,19	0,25
Purê	1	24,73 ± 1,86 ^{a A}	17,84 ± 1,63 ^{b A}	0,31	0,16
	2	24,51 ± 1,29	29,03 ± 0,00	0,25	0,26

*Os valores representam médias ± desvio padrão obtidos por meio de 3 determinações de ácido ascórbico.

**Valores com letras minúsculas iguais na mesma coluna, considerando-se o modo de preparo, indicam que não houve diferença estatisticamente significativa entre as médias ao nível de 5%.

**Valores com letras maiúsculas iguais na mesma linha, considerando-se o modo de cultivo, indicam que não houve diferença estatisticamente significativa entre as médias ao nível de 5%.

Para o tomate convencional (Tabela 7), quando os resultados foram expressos em base úmida, o molho apresentou teor médio de ácido ascórbico igual ao tomate inteiro e significativamente menor que as demais amostras. Para as demais comparações não houve diferença significativa.

No caso do tomate orgânico (Tabela 7), em relação aos valores expressos em base úmida, o purê apresentou teor médio de ácido ascórbico significativamente menor que inteiro e sem pele, sendo que para as demais comparações não houve diferença significativa.

Vale destacar algumas observações relativas aos resultados do teor de ácido ascórbico das amostras (Tabela 7): a variação entre as repetições é baixa; a variação entre os lotes do cultivo convencional é pequena, exceto para o tomate inteiro; a variação entre os lotes do cultivo orgânico é grande.

Os tomates foram processados termicamente de duas diferentes formas (molho e purê de tomate). O tempo e a temperatura de cocção dos produtos são apresentados no Quadro 2. Com base nos resultados de ácido ascórbico apresentados em percentagem em relação ao teor de SST, pode-se inferir que, conforme ocorreu o aumento das etapas de processamento e a aplicação do tratamento térmico, houve perda do conteúdo de ácido ascórbico.

No estudo de GAHLER et al. (2003), o aumento do tempo de aquecimento e dos passos de processamento de diferentes produtos de tomate (suco de tomate, tomates assados, molho e sopa de tomate) ocasionou uma contínua perda de vitamina C.

Na pesquisa de LAVELLI et al. (2000), tomates *in natura* maduros cultivares Rita e Cencara e duas marcas comerciais de purê e de massa de tomate foram adquiridos em um supermercado da Itália. As duas cultivares de tomate *in natura* apresentaram conteúdos muito distintos de ácido ascórbico. O teor de ácido ascórbico foi menor nos derivados de tomate quando comparado ao tomate *in natura*, especialmente na massa de tomate, provavelmente devido à severidade do tratamento térmico.

NICOLI et al. (1997) registraram redução na concentração de ácido ascórbico em purê de tomate de, aproximadamente, 90% após aquecimento a 95°C por 60 minutos. Tal perda foi muito superior à ocorrida na presente pesquisa, a despeito da temperatura de aquecimento ter sido a mesma e do tempo de cozimento, que foi duas vezes maior (120 minutos). No estudo de DEWANTO et al. (2002) houve um declínio do teor de vitamina C nos tomates tratados termicamente.

ABUSHITA et al. (2000) observaram que os níveis de ácido ascórbico, tocoferóis e β -caroteno diminuíram em função do processamento térmico. Similarmente, TAKEOKA et al. (2001) observaram um decréscimo no conteúdo de ácido ascórbico de 10 a 12 mg/100g no suco de tomate para 2 mg/100g na massa de tomate preparada a partir do suco. Os autores registraram que ainda não foi elucidado se estes antioxidantes ou outros componentes dos tomates desempenham papel na prevenção da degradação do licopeno.

Nas comparações estabelecidas entre os dois tipos de cultivo, o tomate orgânico inteiro e o molho orgânico apresentaram teores médios de ácido ascórbico

significativamente maiores que seus similares convencionais, para os demais tipos de preparo não houve diferença significativa (Tabela 7).

A variação no conteúdo de vitamina C em tomates depende, principalmente, das condições ambientais. Segundo MARTINEZ-VALVERDE et al. (2002), diversos experimentos têm demonstrado uma grande influência na variação da intensidade de luz anteriormente à colheita no teor de vitamina C. Portanto, é importante comparar alimentos orgânicos e convencionais plantados e colhidos na mesma estação do ano e provenientes de regiões incidência solar semelhante. Merece destaque o fato de que este controle foi adotado com relação aos frutos utilizados nesta pesquisa.

A média de ácido ascórbico em tomates adubados organicamente foi 29% maior que os resultados obtidos para os tomates adubados com soluções minerais (TOOR et al., 2006). CARIS-VEYRAT et al. (2004) obtiveram superioridade de 31% para tomates orgânicos. Os autores registraram que uma adubação rica em nitrogênio (N) solúvel pode causar algum decréscimo no teor de ácido ascórbico, provavelmente, devido a razões indiretas, uma vez que o suprimento de N aumenta a densidade de folhas da planta, o que promove sombra aos frutos. De acordo com DUMAS et al. (2003), a exposição à luz é um fator favorável para o acúmulo de ácido ascórbico.

PREMUZIC et al. (1998) compararam o conteúdo de ácido ascórbico de tomates cultivados com substrato orgânico aos tomates cultivados hidroponicamente e registraram um conteúdo maior de ácido ascórbico para os frutos produzidos mediante utilização de composto orgânico.

Os valores estimados para ácido ascórbico em dois cultivares plantados em 1998 e analisados por ABUSHITA et al. (2000) se revelaram muito inferiores àqueles registrados para os frutos dos mesmos cultivares plantados no ano de 1995 (ABUSHITA et al, 1997). Os autores sugeriram que esta variação poderia ser atribuída a diferenças nas técnicas utilizadas para o cultivo, tendo em vista que em 1995 os tomates foram cultivados por hidroponia em estufas plásticas, enquanto no ano de 1998, os tomates foram produzidos a campo recebendo fertilização convencional. Assim como para o ácido ascórbico, o conteúdo de carotenóides totais dos frutos de tomate produzidos em 1998 foi superior aos teores apresentados pelos frutos cultivados em 1995 (ABUSHITA et al., 1997). Desse modo, os autores

inferiram que a forma de fertilização da planta e os fatores ambientais (estufa *versus* campo) afetaram de maneira considerável a biossíntese de ácido ascórbico e carotenóides.

Os teores de ácido ascórbico das amostras revelaram-se abaixo do valor médio (34,3 mg/100g) registrado para o tomate nacional, na Tabela de Composição Nutricional de Hortaliças elaborada pela EMBRAPA Hortaliças (LUENGO et al. 2000).

Em geral, a contribuição da vitamina C para a capacidade antioxidante total dos extratos de alimentos de origem vegetal varia de acordo com o tipo de alimento. O conteúdo de vitamina C em tomates depende da cultivar e das condições de cultivo empregadas (ABUSHITA et al., 1997). Os tomates cultivados em estufas na Holanda apresentaram 12,78 mg de vitamina C por 100g de fruto (GAHLER et al., 2003). Pesquisa tendo por base tomate *in natura* proveniente de Singapura, revelou teor de ácido ascórbico de 11 mg/100g de fruto (LEONG e SHUI, 2002). Os cultivares Excell e Aranca produzidos em sistema hidropônico (em estufas) na Nova Zelândia apresentaram teores de ácido ascórbico de 9,34 mg/100g e 24,97 mg/100g (base úmida), respectivamente (SAHLIN et al., 2004).

O conteúdo de ácido ascórbico, determinado por GEORGE et al. (2004), variou de 8,4 a 32,4 mg/100g (base úmida) para a polpa do fruto. Quantidades substanciais de ácido ascórbico foram também identificadas na pele (9,0 a 56,0 mg/100g, em base úmida). O tomate cereja apresentou teor de ácido ascórbico significativamente mais elevado, tanto na polpa quanto na pele, quando comparado a outros cultivares.

Perdas expressivas de nutrientes, especialmente de vitamina C, podem ocorrer durante o armazenamento, fato que contribui também para a variação na composição do fruto (CHITARRA, 1994). Vale enfatizar que, na presente pesquisa, os frutos foram armazenados sob condições idênticas e as análises realizadas a partir do mesmo período após a colheita e a aquisição das amostras para os dois tipos de tomates. Tal procedimento assegurou o controle das condições referentes à preservação do conteúdo de ácido ascórbico.

5.1.2.2 Compostos fenólicos

A atividade antioxidante de plantas parece estar correlacionada à quantidade de compostos fenólicos (CHEUNG et al., 2003). Desse modo, é importante quantificar o teor de fenólicos totais quando se considera o potencial antioxidante de tomates e seus derivados.

Os resultados relativos ao conteúdo de compostos fenólicos totais das amostras são mostrados a seguir (Tabela 8).

Tabela 8. Teor de fenólicos totais, expresso em mg de equivalente de ácido gálico (EAG) por 100g de amostra (base úmida) e em percentagem em relação ao teor de sólidos solúveis totais (% / SST), dos diferentes tipos de preparações e produtos de tomate obtidos por cultivo convencional e orgânico.

Tipo de Preparo	Lote	Convencional* (mg/100g)	Orgânico* (mg/100g)	Convencional (% / SST)	Orgânico (% / SST)
Inteiro	1	163,79 ± 4,76 ^{a A}	210,05 ± 7,43 ^{ab B}	4,09	5,00
	2	143,17 ± 9,40	196,43 ± 5,93	3,43	4,37
Sem pele	1	123,27 ± 3,89 ^{a A}	182,18 ± 3,93 ^{a B}	2,85	4,55
	2	121,40 ± 26,90	165,05 ± 6,11	3,04	4,13
Sem semente	1	136,77 ± 11,0 ^{a A}	220,41 ± 7,40 ^{b B}	3,28	4,90
	2	120,16 ± 0,63	220,30 ± 28,30	2,67	4,90
Molho	1	244,17 ± 13,28 ^{b A}	351,90 ± 38,60 ^{c B}	2,21	3,20
	2	195,93 ± 2,66	324,85 ± 14,57	2,01	3,04
Purê	1	174,69 ± 2,25 ^{b A}	300,42 ± 15,55 ^{d B}	2,19	2,73
	2	211,01 ± 1,52	295,92 ± 9,60	2,15	2,69

* Os valores representam médias ± desvio padrão obtidos por meio de 3 determinações de fenólicos totais.

**Valores com letras minúsculas iguais na mesma coluna, considerando-se o modo de preparo, indicam que não houve diferença estatisticamente significativa entre as médias ao nível de 5%.

**Valores com letras maiúsculas iguais na mesma linha, considerando-se o modo de cultivo, indicam que não houve diferença estatisticamente significativa entre as médias ao nível de 5%.

Para o tomate convencional (Tabela 8), quando os resultados foram expressos em base úmida, os produtos (molho e purê) apresentaram teores médios de fenólicos significativamente maiores que as preparações (inteiro, sem pele e sem semente). Comparando-se entre preparações e entre produtos, não foram identificadas diferenças significativas entre as médias.

Para o tomate orgânico (Tabela 8), em relação aos valores expressos em base úmida, o molho apresentou superioridade no tocante ao teor médio de fenólicos em relação ao purê, sendo que ambos apresentaram teores médios significativamente superiores, quando comparados às preparações (inteiro, sem pele e sem semente). Entre as preparações, o tomate sem semente apresentou teor significativamente maior que o sem pele. Para as demais comparações, não foram identificadas diferenças significativas. De acordo com estudo de GEORGE et al. (2004), que avaliaram separadamente a pele e a polpa dos frutos de tomate, a pele apresentou teores significativamente mais elevados de fenólicos totais do que a polpa dos tomates.

Entretanto, quando o teor de fenólicos totais foi expresso em percentagem em relação ao teor de sólidos solúveis totais, pode-se observar, tanto para o cultivo orgânico quanto para o convencional, que houve perda do conteúdo de fenólicos para as amostras tratadas termicamente.

GAHLER et al. (2003) conduziram pesquisa visando a avaliação do impacto do tratamento térmico sobre o conteúdo de vitamina C e de compostos fenólicos e a capacidade antioxidante da fração hidrofílica de produtos à base de tomate. O molho de tomate foi preparado de acordo com condições domésticas. Os autores registraram que o conteúdo de vitamina C do produto diminuiu durante o tratamento térmico dos tomates. O contrário ocorreu com o conteúdo de fenólicos totais e a capacidade antioxidante da fração hidrossolúvel, que aumentaram significativamente com o aquecimento (o molho foi submetido ao cozimento durante 50 minutos). Segundo os autores, o aumento de fenólicos totais durante o processamento térmico dos tomates ocorreu, possivelmente, devido à liberação de fenólicos da matriz do alimento.

O conteúdo de fenólicos totais de nove cultivares de tomate provenientes da Espanha variou entre 27,26 e 49,86 mg em equivalente de ácido ferúlico por 100g de tomate (base úmida) (MARTINEZ-VALVERDE et al., 2002). Entretanto, de acordo com os autores, estes valores são apenas um indicativo da concentração de polifenóis

em tomates, uma vez que não há um único método analítico que seja capaz de mensurar precisamente o conteúdo total de polifenol de um alimento. As razões para tal limitação incluem a diversidade estrutural encontrada entre os compostos fenólicos e a ampla variação no conteúdo, dependendo da natureza do alimento e da parte da planta da qual este deriva. O reagente Folin-Ciocalteu, utilizado no teste, usualmente contribui para a obtenção de valores superestimados do conteúdo de compostos fenólicos, uma vez que outros agentes redutores presentes nos alimentos, como por exemplo o ácido ascórbico, podem causar interferência.

LAVELLI et al. (2000) observaram maior concentração de fenólicos totais em massa de tomate comercial quando comparada com tomates *in natura*. GARCÍA et al. (2000) determinaram o conteúdo de fenólicos totais por meio da adoção do método de Folin Ciocalteu e registraram teores que variaram entre 28,9 e 22,0 mg/100g (base úmida) em equivalente de ácido tânico para purê e fruto de tomate, respectivamente.

LIMA et al. (2005) registraram que, frutos de acerola produzidos no estado de Pernambuco e colhidos na estação mais seca do ano, apresentaram maior teor de fenólicos totais quando comparados àqueles colhidos na estação chuvosa. Os autores atribuíram este resultado à influência de fatores climáticos, uma vez que as precipitações podem ter contribuído para diluir o suco celular e reduzido os níveis de fenólicos totais. Portanto, é importante comparar frutos plantados e colhidos na mesma época do ano.

Nesta pesquisa, na comparação entre os dois tipos de cultivo (Tabela 8), o tomate orgânico apresentou teor médio de fenólicos significativamente maior que o tomate convencional para todos os produtos e preparações. Este resultado é concordante com as informações obtidas por TOOR et al. (2006), que registraram um maior nível de fenólicos totais em tomates adubados organicamente com relação àqueles que receberam adubação convencional. CARIS-VEYRAT et al. (2004) obtiveram superioridade de 170% e 12,5%, respectivamente, de rutina e naringenina para tomates orgânicos em comparação aos convencionais.

Os compostos fenólicos são originados a partir do metabolismo secundário das plantas. Inúmeros metabólitos secundários agem como fungicidas e antibióticos, protegendo as plantas contra o ataque de fungos e bactérias (VICKERY e

VICKERY, 1981). Desse modo, pode-se inferir que o maior teor de compostos fenólicos nos alimentos orgânicos ocorra devido à possível incidência de pragas e patógenos no método de cultivo orgânico, no qual não são utilizados pesticidas. Esta maior incidência, pode ter causado algum tipo de estresse e, assim, provocado um aumento da produção de compostos fenólicos pelas plantas, com o objetivo de aumentar suas defesas naturais.

REN et al. (2001) avaliaram o conteúdo de polifenóis de cinco hortaliças amplamente consumidas no Japão (couve, repolho chinês, espinafre, alho e pimentão verde) produzidas pelo cultivo orgânico e convencional. Os conteúdos de flavonóides (quercetina) e ácido caféico foram de 1,3 a 10,4 vezes maiores para os produtos orgânicos, sugerindo assim a influência exercida por diferentes práticas de cultivo.

Tomates provenientes do cultivo hidropônico em estufas na Nova Zelândia (SAHLIN et al., 2004) apresentaram teores de fenólicos totais entre 21,3 mg/100g e 36,40 mg/100g (base úmida) em EAG.

RIVERO et al. (2001) avaliaram tomates cultivados em diferentes temperaturas, quanto ao teor de fenólicos totais, que foram extraídos dos frutos com metanol e quantificados pelo método de Folin. Os resultados foram 306, 226,6 e 552 mg (em equivalente de ácido caféico) por 100g de tomate (base úmida) para os cultivos a 15, 25 e 35°C, respectivamente. De acordo com estes resultados, pode-se verificar que o aumento da temperatura ambiente ocasionou o acúmulo de compostos fenólicos nos frutos.

A incidência de luz é um dos principais fatores ambientais que influenciam a produção de fenólicos pelos vegetais, sendo os maiores níveis registrados para as plantas que recebem iluminação abundante. Na presente pesquisa, todos os frutos (orgânicos e convencionais) foram cultivados a campo na região sudeste do país. Portanto, pode-se inferir que a diferença encontrada entre os teores de fenólicos tenha ocorrido devido a diferenças no manejo.

5.1.2.3 Licopeno

O licopeno é o mais abundante carotenóide presente em tomates vermelhos, constituindo aproximadamente 90% do total de carotenóides (GROSS, 1987; CLINTON, 1998; SHI e Le MAGUER, 2000; ABUSHITA et al. 2000).

Os resultados das determinações dos teores de licopeno das amostras foram reunidos na Tabela 9.

Tabela 9. Teor de licopeno, expresso em mg/100g de amostra (base úmida) e em percentagem em relação ao teor de sólidos solúveis totais (% / SST), dos diferentes tipos de preparações e produtos de tomate obtidos por cultivo convencional e orgânico.

Tipo de Preparo	Lote	Convencional* (mg/100g)	Orgânico* (mg/100g)	Convencional (% / SST)	Orgânico (% / SST)
Inteiro	1	1,54 ± 0,05 ^{a A}	1,79 ± 0,05 ^{a A}	0,04	0,04
	2	2,09 ± 0,31	1,53 ± 0,02	0,05	0,03
Sem pele	1	1,43 ± 0,15 ^{b A}	0,98 ± 0,04 ^{b A}	0,03	0,02
	2	0,64 ± 0,02	1,15 ± 0,03	0,02	0,03
Sem semente	1	1,84 ± 0,05 ^{a A}	1,52 ± 0,05 ^{ab A}	0,04	0,03
	2	1,63 ± 0,01	1,74 ± 0,05	0,04	0,04
Molho	1	2,44 ± 0,16 ^{a A}	2,16 ± 0,19 ^{a A}	0,02	0,02
	2	1,82 ± 0,08	1,42 ± 0,08	0,02	0,01
Purê	1	1,85 ± 0,12 ^{a A}	3,02 ± 0,13 ^{c A}	0,02	0,03
	2	2,54 ± 0,12	2,53 ± 0,05	0,03	0,02

*Os valores representam médias ± desvio padrão obtidos por meio de 3 determinações de licopeno.

**Valores com letras minúsculas iguais na mesma coluna, considerando-se o modo de preparo, indicam que não houve diferença estatisticamente significativa entre as médias ao nível de 5%.

**Valores com letras maiúsculas iguais na mesma linha, considerando-se o modo de cultivo, indicam que não houve diferença estatisticamente significativa entre as médias ao nível de 5%.

Examinando-se os dados da Tabela 9, pode-se observar, para o tomate convencional (base úmida), que apenas a preparação sem pele apresentou teor médio

de licopeno significativamente menor que as demais amostras. Para as demais comparações, não foram identificadas diferenças estatisticamente significativas.

Os resultados da determinação dos teores de licopeno em diferentes cultivares de tomates realizada por GEORGE et al. (2004) revelaram uma significativa variação entre os conteúdos da polpa e da pele dos frutos. O conteúdo de licopeno variou de 4,8 a 14,1 mg/100g na pele e 2,0 a 6,9 mg/100g na polpa, em base úmida. Em média, a pele do tomate apresentou um teor de licopeno 2,5 vezes maior quando comparada com a polpa.

No caso do tomate orgânico (Tabela 9), quando os resultados foram expressos em base úmida, o purê apresentou teor médio de licopeno significativamente maior que o conteúdo identificado nas demais amostras. O tomate inteiro e o molho apresentaram teores médios significativamente maiores que o fruto sem pele. Para as demais comparações nenhuma diferença significativa foi encontrada. Como esperado, a concentração de licopeno no purê foi maior do que no tomate *in natura*.

Conforme apresentado anteriormente (Tabela 3), o teor de sólidos solúveis totais indicou que o purê e o molho eram quase duas vezes mais concentrados que o tomate *in natura*, desse modo, poderia ser esperado o dobro da concentração de licopeno em comparação às preparações. Entretanto, isso não ocorreu (Tabela 9), o que leva à hipótese que consideráveis perdas de carotenóides ocorreram durante o processamento, refletindo o efeito do longo e drástico processamento térmico, particularmente durante a etapa de concentração do produto.

Para a produção de purê realiza-se homogeneização e o tratamento térmico dos tomates, que podem causar o rompimento das membranas celulares, aumentando a biodisponibilidade dos carotenóides (VON HET HOF et al., 2000). Além disso, os alimentos são misturas complexas de componentes, que têm o potencial de reagir e interagir durante o processamento e, desse modo, provocar mudanças no valor nutritivo do alimento (DAVEY et al., 2000).

ANESE et al. (2002) verificaram que a concentração de licopeno em purês aquecidos a 90, 100 e 110°C foi estatisticamente maior quando comparada ao purê que não foi submetido ao tratamento térmico. O maior teor de licopeno para as

amostras tratadas termicamente, foi atribuído à uma melhor extração de carotenóides, devido à desintegração térmica dos cromoplastos e ao rompimento dos cristais de carotenóides.

Reconhece-se que o processamento de alimentos pode ter muitos efeitos, nem todos resultando na perda de qualidade e das propriedades benéficas à saúde. Os estudos de STHAL e SIES (1992); DEWANTO et al. (2002) mostraram que a biodisponibilidade do licopeno aumenta como consequência do aquecimento moderado dos vegetais.

NIIZU e RODRIGUEZ-AMAYA (2003) identificaram o teor de licopeno para tomates cultivar Carmem (3,5 mg/100g) e Santa Cruz (3,1 mg/100g) provenientes do estado de São Paulo.

GEORGE et al. (2004) observaram uma ampla variação no teor de licopeno ao avaliarem diferentes cultivares de tomate. A variabilidade foi atribuída, principalmente, à nutrição das plantas, aos fatores ambientais e ao genótipo, que juntos podem afetar a biossíntese de carotenóides. Variações similares, entre 5 e 11 mg/100g de licopeno em tomates, foram registradas por ABUSHITA et al. (2000) para cultivares da Hungria. Entretanto, estes autores não observaram mudanças na concentração de licopeno, quando tomates *in natura* foram transformados em massa de tomate utilizando-se um método de processamento comercial.

THOMPSON et al. (2000) registraram teores de licopeno de 2,62 a 5,79 mg/100g para diversas cultivares de tomate.

TAVARES e RODRIGUEZ-AMAYA (1994) verificaram a composição de carotenóides de tomate cultivar Santa Cruz e de produtos de tomate adquiridos em supermercados de Campinas. Houve o predomínio do licopeno, que contribuiu para 75% do total de carotenóides. A variação quantitativa deste pigmento foi apreciável, para um valor de 31,1µg obtido para *trans*-licopeno por 100g de tomate calculou-se um alto desvio padrão (20,2). Os valores para licopeno variaram de 1,2 a 7,3 mg/100g do fruto e de 5,6 a 27,3 mg/100g de purê (marcas comerciais).

No caso dos frutos contendo o gene inibidor do amadurecimento (*ripening inhibitor* ou *rin*), tal como tomates cultivar Carmem, tipo “longa vida”, muitos aspectos do padrão normal de amadurecimento são afetados e a vida útil dos frutos contendo os alelos recessivos é mais longa. Estes frutos contêm níveis normais de

clorofila, porém com o decorrer do desenvolvimento, este pigmento desaparece a uma velocidade muito menor do que o normal. Portanto, o conteúdo de licopeno é mais baixo para cultivares que apresentam o gene *rin*. Desse modo, a principal desvantagem da adoção de genes para retardar o amadurecimento é a falta de pigmentação no fruto maduro (DAVIES e HOBSON, 1981).

Embora o processamento de tomate seja, geralmente, realizado mediante exposição a elevadas temperaturas, por um extenso período de tempo e sob pouco vácuo, no estudo de ABUSHITA et al. (2000), a integridade dos carotenóides, exceto para o β -caroteno, permaneceu inalterada e a distribuição qualitativa de carotenóides na massa de tomate permaneceu idêntica àquela do tomate *in natura*. Estes resultados estão em desacordo com aqueles apresentados por TAVARES e RODRIGUEZ-AMAYA (1994), que estudaram o perfil de carotenóides em tomates e produtos de tomate brasileiros. Esta variação entre estudos pode ser devido a fatores ambientais, tecnológicos, a técnicas de cultivo e às diversas variedades cultivadas.

O licopeno é responsável pela cor vermelha dos tomates. Considerando-se a cor como um parâmetro de qualidade para os produtos de tomate, a perda de licopeno pelo processamento e durante o armazenamento representa depreciação do produto (ABUSHITA et al., 2000). A oxidação é a principal causa da perda de licopeno durante o processamento (ANGUELOVA e WARTHSEN, 2000).

TONUCCI et al. (1995) avaliaram o conteúdo de carotenóides em tomates e produtos à base de tomate adquiridos em supermercados das cidades de Nova Iorque, Chicago e Los Angeles. Como esperado, o licopeno foi o carotenóide encontrado em maior abundância. A quantidade de licopeno em produtos processados depende da composição do alimento utilizado como matéria-prima e das condições de processamento. Os níveis de licopeno nos produtos processados são geralmente maiores do que os encontrados em alimentos *in natura*, uma vez que há concentração do produto durante o processamento, como no caso do purê e da massa de tomate (SHAMI e MOREIRA, 2004).

Com relação aos tipos de cultivo, não foi possível identificar diferença significativa entre orgânicos e convencionais no tocante ao teor de licopeno (Tabela 9) para todas as preparações e produtos avaliados.

O conteúdo de carotenóides em frutas e hortaliças, particularmente em tomates, depende de fatores como a exposição à luz e temperatura e o grau de maturidade dos frutos (ABUSHITA et al., 2000). Desse modo, é possível inferir que ausência de diferença entre orgânicos e convencionais seja devido ao controle das condições de maturação, transporte e armazenamento da matéria-prima. Além disso, ambos tomates pertenciam a cultivar Carmem e eram provenientes da região sudeste do país.

ISHIDA e CHAPMAN (2004) estimaram o conteúdo total de carotenóides e, especificamente, o conteúdo de licopeno em amostras de *ketchup* orgânicos e convencionais e demonstraram que o total de *trans*-licopeno representa entre 68,9 e 100% do total de carotenóides. As amostras de *ketchup* produzidas por empresas de alimentos orgânicos apresentaram maiores teores de licopeno e de carotenóides totais, assim como melhor atividade antioxidante total (fração lipofílica e hidrofílica). Segundo GROSS (1987), a fertilização do solo é um fator que afeta a biossíntese de carotenóides em frutos.

Os valores obtidos para licopeno são concordantes com WILBERG e RODRIGUEZ-AMAYA (1993), que obtiveram 2,4 mg de licopeno por 100g de frutos de tomate *in natura*, provenientes do estado do Rio de Janeiro.

Teores de licopeno entre 1,86 e 6,50 mg/100g de tomate (base úmida) foram determinados espectrofotometricamente para nove cultivares de tomate provenientes da Espanha (MARTINEZ-VALVERDE et al., 2002). SAHLIN et al. (2004) obtiveram teores de 2,54 e 3,78 mg/100g para dois cultivares de tomate produzidos na Nova Zelândia, por meio da adoção de sistema hidropônico.

DJURIC e POWELL (2001) registraram os seguintes valores de licopeno: 2,28 mg/100g de tomate *in natura* e 6,01 mg/100g de molho de tomate. Segundo os autores, os valores obtidos para o conteúdo total de licopeno foram discrepantes, uma vez que existe uma variabilidade normalmente presente em alimentos decorrentes da influência de diversos fatores, como por exemplo, o grau de maturação dos tomates, a cultivar utilizada e as diferenças no processamento para elaboração de produtos a base de tomate.

As concentrações obtidas para o licopeno foram menores do que aquelas registradas por TONUCCI et al. (1995), que quantificaram licopeno em tomates

(9,27mg/100g) e purê de tomate (16,67 mg/100g) adquiridos nos supermercados de Nova Iorque, Chicago e São Francisco. O conteúdo de licopeno determinado espectrofotometricamente para diferentes marcas de molhos de tomate canadenses foi de 13 mg/100g, enquanto para o purê o valor obtido foi 19,56 mg/100g (RAO et al., 1998).

CARIS-VEYRAT et al. (2004) realizaram um estudo visando à comparação do conteúdo de compostos antioxidantes presentes em tomates cultivados orgânica e convencionalmente. Os resultados, expressos em base úmida, demonstraram maior teor de vitamina C, carotenóides e polifenóis para o tomate orgânico. A partir destes tomates foram elaborados purês, entre os quais não foi observada diferença com relação ao conteúdo de carotenóides para os dois tipos de cultivo, enquanto as concentrações de vitamina C e polifenóis permaneceram mais expressivas nos purês preparados com tomates orgânicos. Os autores avaliaram ainda se o consumo destes purês afetaria, em diferentes níveis, os teores de antioxidantes no plasma sanguíneo humano. Para a intervenção nutricional (3 semanas do consumo de 96 g/dia de purê de tomate) não foram encontradas diferenças significativas, devido ao consumo dos dois tipos de purê (orgânico e convencional).

Em estudo realizado por GIOVANELLI et al. (2002), o teor de licopeno do tomate *in natura* permaneceu praticamente inalterado após desidratação a 70°C. No entanto, o conteúdo de ácido ascórbico diminuiu significativamente após a referida desidratação.

O conteúdo de licopeno nos frutos maduros pode ser correlacionado com vários parâmetros decorrentes do estágio de maturação. Correlações positivas entre o conteúdo de licopeno e teor de sólidos insolúveis, pH, teor de sólidos solúveis totais e ângulo de cor dos tomates foram registradas por MARTINEZ-VALVERDE et al. (2002). A concentração de licopeno aumenta com a maturidade dos tomates quando os cloroplastos mudam para cromoplastos e a síntese de licopeno aumenta, ocasionando o desenvolvimento da cor vermelha (ARIAS et al., 2000).

SAHLIN et al. (2004) identificaram diferenças significativas no conteúdo de ácido ascórbico, fenólicos totais, licopeno e atividade antioxidante entre os dois cultivares de tomate. Os autores verificaram que processos como ferver, assar e fritar os tomates levaram à uma significativa redução no conteúdo de ácido ascórbico,

fenólicos totais e licopeno, em comparação com resultados obtidos para os tomate *in natura*. Entre os processamentos, a fritura causou a maior perda de nutrientes e da atividade antioxidante, o que pode ser justificado pelas elevadas temperaturas utilizadas neste processo. Entre os compostos antioxidantes, a maior perda decorrente do processamento térmico, foi observada para o ácido ascórbico.

SAHLIN et al. (2004) compararam os resultados de sua pesquisa que utilizou como amostra tomates cultivares Excell e Aranca produzidos na Nova Zelândia e colhidos na primavera, com a pesquisa de MOLYNEUX (2001), citada por SAHLIN et al. (2004, p.10) em que os mesmos cultivares, plantados sob as mesmas condições, foram colhidos no outono (abril-maio) naquele país. Os autores verificaram que, embora os tomates tenham sido cultivados sob as mesmas condições e colhidos no mesmo grau de maturação, foram encontradas diferenças na atividade antioxidante, sendo esta superior para os dois cultivares quando colhidos no outono. Tal fato reforça a importância de se comparar alimentos produzidos na mesma época do ano.

Vale registrar a inferioridade dos valores de licopeno obtidos por meio da presente pesquisa, quando se compara aos resultados divulgados por outros autores citados anteriormente. Considerando que, na maior parte dos estudos, os pesquisadores utilizaram marcas comerciais como amostras, esta diferença pode ser explicada devido à adoção de variedades de tomate ricas em licopeno como matéria-prima pela indústria, para elaboração de produtos à base de tomate. A utilização de tomates com alto teor de licopeno pela indústria de alimentos tem sido recomendada como uma forma de compensar possíveis perdas de cor durante o processamento (TAVARES e RODRIGUEZ-AMAYA, 1994).

A concentração de ácido ascórbico, compostos fenólicos e licopeno em tomates é determinada por fatores agrônômicos, geográficos e sazonais, além da variedade cultivada (MARTINEZ-VALVERDE et al., 2002). Elucidar a relação entre estes fatores e o conteúdo de componentes com potencial antioxidante é necessário quando se almeja explorar os potenciais benefícios à saúde humana decorrente do consumo de tomates e seus produtos.

Comparações com relação ao teor de compostos antioxidantes não são fáceis de serem estabelecidas, considerando-se a variabilidade inerente das amostras de alimentos *in natura* e também devido aos resultados quantitativos serem expressos de

formas distintas (porcentagens relativas, unidade de peso por peso úmido ou peso seco da amostra) pelos autores. De acordo com TAVARES e RODRIGUEZ-AMAYA (1994), diferentes cultivares, efeitos climáticos, estágio de maturidade exato (embora todas as amostras sejam descritas como maduras), diferentes condições de processamento e armazenamento dos produtos, além de distintos procedimentos analíticos podem contribuir para as diferenças identificadas por meio de diversas pesquisas.

De acordo com os resultados obtidos nesta pesquisa, verificou-se que a perda de licopeno pode ser decorrente de qualquer um ou a uma combinação dos seguintes fatores: (a) remoção da pele; (b) estágio de maturidade dos tomates utilizados como matéria-prima; e (c) degradação de carotenóides durante o processamento.

A diferença registrada para o conteúdo de licopeno entre os tomates e produtos de tomate analisados nesta pesquisa e aqueles avaliados por outros autores, pode ser devido aos seguintes fatores: (a) diferença entre cultivares utilizadas como matéria-prima; (b) diferença nas condições de processamento e/ou cultivo; e (c) variação analítica.

Vale registrar que todas as análises quantitativas de compostos antioxidantes (ácido ascórbico, fenólicos totais e licopeno) e algumas das medidas físico-químicas (cor e umidade) foram realizadas para as amostras, após serem submetidas à liofilização (dados não apresentados). Desse modo, foi possível verificar que todos os compostos antioxidantes foram mantidos após o processo de liofilização das amostras.

5.2 Caracterização dos extratos

A presença de diferentes componentes antioxidantes em tecidos vegetais, especialmente, frutas e hortaliças, faz com que seja relativamente difícil mensurar a atividade antioxidante de cada componente antioxidante separadamente. Desse modo, diversos métodos têm sido desenvolvidos para calcular a atividade antioxidante total das amostras. Os pesquisadores testam diferentes solventes e

métodos de extração para certificar a máxima solubilização dos antioxidantes presentes na amostra.

A utilização de três solventes de diferentes polaridades, éter etílico (2,9), etanol (5,2) e água (9), possibilitou a solubilização de compostos mais polares (extrato aquoso), de polaridade intermediária (extrato alcoólico) e apolares (extrato etéreo) das diversas amostras em estudo. O éter etílico e o etanol eram de grau analítico e a água destilada.

De acordo com os registros de TAKEOTA et al. (2001), a extração de tomates com metanol ou água resultou na fração polar ou aquosa, também denominada hidrofílica, que continha ácido ascórbico e compostos fenólicos (principalmente os ácidos hidroxicinâmicos clorogênico e caféico). Os autores utilizaram também mistura de solventes como hexano/acetona/metanol, que resultou na fração apolar ou lipofílica, a qual continha carotenóides (licopeno e β -caroteno). Desse modo, os autores concluíram que, para avaliar a atividade antioxidante de tomates, devem ser analisadas as duas frações (hidrofílica e lipofílica).

ANESE et al. (2002) avaliaram a influência de diferentes temperaturas durante o tratamento térmico de purê de tomate na cor e nas propriedades antioxidantes dos produtos. Os purês foram preparados com tomates *in natura* maduros adquiridos em supermercado. Os frutos foram lavados, triturados e peneirados para separar a pele e a semente da polpa. Os autores registraram que a fração aquosa, obtida pela centrifugação do purê, continha, principalmente, polifenóis e ácido ascórbico. A fração apolar, extraída da parte sólida (resultante da centrifugação) com hexano-acetona-etanol, foi separada em duas frações distintas (polar e apolar), a última contendo licopeno.

Os teores de matéria seca dos extratos obtidos a partir das amostras liofilizadas foram reunidos nas Tabelas 10, 11 e 12. Observa-se que a maior concentração de matéria seca, para todas as amostras, corresponde ao extrato aquoso, o que indica a maior presença de compostos de alta polaridade. Os menores valores corresponderam ao extrato etéreo.

Tabela 10. Teor de resíduo seco expresso em mg/mL de extrato etéreo obtido a partir de diferentes tipos de preparações e produtos de tomate provenientes do cultivo orgânico e convencional.

Tipo de Preparo	Lotes	Convencional*	Orgânico*
Inteiro	1	0,45	0,50
	2	0,40	0,40
Sem pele	1	0,55	0,70
	2	0,50	0,50
Sem semente	1	0,40	0,30
	2	0,40	0,30
Molho	1	2,00	3,45
	2	2,20	2,95
Purê	1	0,10	0,35
	2	0,10	0,45

*Os valores representam médias 3 determinações de resíduo seco no extrato etéreo.

Carotenóides são considerados lipídios sendo, portanto, solúveis em outros lipídios (lipossolúveis) e em solventes orgânicos, como éter etílico, clorofórmio e hexano. Segundo GROSS (1987), para extração de carotenóides de material desidratado, pode-se utilizar solventes imiscíveis em água como o éter etílico.

O licopeno localiza-se nos cromoplastos dispersos por todo o fruto de tomate. Este carotenóide aparece como micro cristais sólidos, assim, quando a luz reflete no fruto dá ao tomate a cor vermelha. No entanto, quando o licopeno é solubilizado em lipídios ou solventes, sua cor é amarela ou laranja escura, não vermelha (SHI et al., 1999).

Considerando-se tais informações e a coloração alaranjada do extrato etéreo, pode-se inferir que o resíduo seco deste extrato constitui-se, em grande parte, de carotenóides.

Com base na Tabela 10, é possível observar que os teores de resíduo seco para o molho convencional e orgânico foram superiores em relação às demais amostras, indicando, que substâncias de maior peso molecular foram extraídas. Tal fato pode ter ocorrido devido à composição do produto, que não consistia apenas de

tomate. O produto incluía outros ingredientes, tais como: azeite de oliva, cebola, alho, sal e açúcar.

As pesquisas apontam que a atividade antioxidante dos alimentos está relacionada ao conteúdo de compostos fenólicos (MARTINEZ-VALVERDE et al., 2002; CHEUNG et al., 2003). Assim, julgou-se importante quantificar o teor de fenólicos totais dos extratos obtidos a partir do tomate e seus produtos. A determinação de fenólicos totais no extrato etéreo foi impossibilitada pela não miscibilidade entre solventes e reagentes, tornando a solução turva.

Com o objetivo de identificar quais compostos com potencial antioxidante estariam presentes nos extratos, foram quantificados os teores de fenólicos totais (extrato alcoólico e aquoso) e de ácido ascórbico (extrato aquoso).

Os resultados das determinações do teor de resíduo seco e de compostos fenólicos totais no extrato alcoólico das amostras são apresentados a seguir (Tabela 11).

Tabela 11. Teor de resíduo seco (mg/mL) e fenólicos totais (mg/mL em EAG) do extrato alcoólico obtido a partir de diferentes tipos de preparações e produtos de tomate provenientes do cultivo orgânico e convencional.

Tipo de Preparo	Lotes	Convencional*		Orgânico*	
		RS	FT	RS	FT
Inteiro	1	6,05	3,42	4,15	3,55
	2	5,95	3,29	4,15	3,31
Sem pele	1	5,05	2,66	5,15	3,19
	2	7,35	3,51	4,80	3,31
Sem semente	1	7,55	3,82	5,75	4,03
	2	5,45	3,27	5,30	3,66
Molho	1	5,85	2,69	7,75	3,62
	2	7,20	2,73	6,65	3,49
Purê	1	6,55	2,93	5,05	3,13
	2	5,55	2,90	5,90	3,22

*Os valores representam médias 3 determinações de resíduo seco e de 2 determinações de fenólicos totais no extrato alcoólico.

RS = resíduo seco

FT = fenólicos totais

Comparando-se os dois tipos de cultivo, para o extrato alcoólico, a média de fenólicos totais não diferiu significativamente entre convencional e orgânico (Tabela 11).

TAKEOTA et al (2001) atribuíram a atividade antioxidante do extrato metanólico à presença de compostos fenólicos, tais como os ácidos caféico e clorogênico.

Os resultados das determinações do teor de resíduo seco, fenólicos totais e ácido ascórbico nos extratos aquosos das amostras são apresentados a seguir (Tabela 12).

Tabela 12. Teor de resíduo seco (mg/mL), fenólicos totais (mg/mL em EAG) e ácido ascórbico (mg/mL) do extrato aquoso obtido a partir de diferentes tipos de preparações e produtos de tomate provenientes do cultivo orgânico e convencional.

Tipos de Preparo	Lote	Convencional*			Orgânico*		
		RS	FT	AA	RS	FT	AA
Inteiro	1	15,05	3,47	0,013	15,05	4,36	0,032
	2	14,55	2,91	0,013	14,60	3,92	0,037
Sem pele	1	16,05	2,51	0,015	16,00	4,26	0,064
	2	15,45	3,45	0,015	16,25	4,28	0,053
Sem semente	1	15,05	3,27	0,024	11,55	4,08	0,082
	2	15,25	3,12	0,013	14,7	4,76	0,053
Molho	1	15,80	3,96	0,015	16,25	3,89	0,024
	2	14,40	2,49	0,015	13,85	4,09	0,024
Purê	1	15,40	2,98	0,075	20,75	3,92	0,024
	2	18,35	3,23	0,013	21,75	4,74	0,024

*Os valores representam médias 3 determinações de resíduo seco e de 2 determinações de ácido ascórbico e de fenólicos totais no extrato aquoso.

RS = resíduo seco

FT = fenólicos totais

AA = ácido ascórbico

Por meio de comparação entre os teores de fenólicos totais presentes no extrato aquoso (Tabela 12) dos dois tipos de cultivo, foi possível obter valor médio para o alimento orgânico significativamente maior que o verificado para o convencional, quando se consideram todos os tipos de preparo.

Cabe lembrar que o ácido ascórbico é uma substância hidrossolúvel (DAVEY et al., 2000), portanto, quantificou-se seu conteúdo apenas no extrato aquoso.

Quanto ao conteúdo de ácido ascórbico, para o tomate convencional (Tabela 12), não foram observadas diferenças significativas entre a maioria dos produtos, exceto para o purê, que apresentou média maior que o sem semente. Para o tomate orgânico, sem pele e sem semente apresentaram médias significativamente maiores que as demais amostras (molho, purê e inteiro).

Comparando-se os dois tipos de cultivo (Tabela 12), observou-se que o orgânico apresentou teor de ácido ascórbico significativamente maior que o convencional para todas as amostras.

CHEUNG et al. (2003), analisando a quantidade de fenólicos totais de cogumelos, registraram maior teor nos extratos obtidos em metanol e em água quando comparados a outros solventes como éter de petróleo e etil acetato. Os autores observaram maior extração de compostos fenólicos conforme ocorreu aumento da polaridade do solvente.

O teor de resíduo seco dos extratos (Tabelas 10, 11 e 12) demonstrou que o etanol e a água foram capazes de solubilizar a maior parte dos componentes do tomate. Tal reação implica que a maior parte dos componentes solúveis do tomate é de média e alta polaridade.

Comparando-se os teores de fenólicos totais dos extratos alcoólico e aquoso, para o tomate convencional, as médias dos valores dos dois extratos obtidas para a totalidade das formas de preparo não diferiram significativamente. Para o tomate orgânico, o extrato aquoso apresentou conteúdo significativamente maior de fenólicos totais quando comparado ao extrato etanólico para todas as formas de preparo. Neste caso, a concentração de fenólicos, expressa em mg de EAG/mL do extrato, foi dependente do solvente utilizado para extração.

CHEUNG et al. (2003) avaliaram a capacidade antioxidante de extratos obtidos a partir dos cogumelos *Lentinus edodes* e *Volvariella volvacea*. O teor de fenólicos totais no extrato aquoso foi maior do que no extrato metanólico. Correlações positivas foram observadas entre o conteúdo de fenólicos totais dos extratos e suas respectivas atividades antioxidantes.

5.3 Atividade Antioxidante *in vitro* dos Extratos

A avaliação da atividade antioxidante torna-se um subsídio cada vez mais relevante nas áreas da nutrição e da tecnologia de alimentos. Ao invés de determinar, individualmente, a concentração de cada antioxidante, a avaliação da capacidade antioxidante total, adotando-se diferentes métodos, revela-se cada vez mais importante. A atividade antioxidante é uma medida da capacidade das substâncias extraídas da matriz do alimento de sequestrar radicais livres (teste do DPPH) ou de retardar o processo de oxidação lipídica em um sistema controlado (sistema β -caroteno / ácido linoléico).

Foram utilizados dois testes (DPPH e β -caroteno/ácido linoléico) para avaliar a atividade antioxidante *in vitro* dos extratos das amostras, no sentido de estimar os potenciais benefícios à saúde, proporcionados pelo tomate e seus derivados. Estes testes são amplamente reconhecidos para avaliar extratos de plantas *in vitro* (MELO e MANCINI-FILHO, 1989; BRAND-WILLIAMS et al., 1995; LEONG e SHUI, 2002; MARTINEZ-VALVERDE et al, 2002; KAUR e KAPOOR et al., 2002).

Com o objetivo de obter resultados confiáveis sobre os mecanismos de ação dos compostos antioxidantes e suas relativas contribuições, a atividade antioxidante de cada uma das amostras de tomate foi avaliada por meio da adoção de três diferentes extratos (etéreo, alcoólico e aquoso).

O termo “antioxidante” será utilizado para referir-se a ambas atividades: o efeito anti-radical (atividade de sequestrar radicais livres) e a ação antioxidante (atividade de prevenir ou retardar a oxidação lipídica).

5.3.1 Atividade antioxidante pelo seqüestro de radicais livres - Método do DPPH

BRAND-WILLIAMS et al. (1995) propuseram o método envolvendo a utilização do 1,1-difenil-2-picrilhidrazil (DPPH[•]), no qual compostos antioxidantes reagem com o radical estável em uma solução de metanol. A redução do DPPH[•] é acompanhada pelo monitoramento do decréscimo na absorbância em comprimento de onda característico durante a reação. Em sua forma radical, o DPPH[•] apresenta absorbância a 517 nm, mas sob redução por um antioxidante (AH) ou uma espécie radical (R[•]) a absorbância desaparece (ver equações abaixo).

A capacidade de seqüestro do radical livre DPPH pela amostra é determinada pela habilidade de transferência de hidrogênio para o radical livre estável DPPH. A propriedade de seqüestrar radicais livres dos compostos presentes em vários extratos de plantas tem sido recentemente apontada, sugerindo um possível papel protetor destes compostos, reduzindo o risco de doenças cardiovascular em humanos.

O seqüestro de radicais livres é um dos mecanismos reconhecidos pelo qual ocorre a ação dos antioxidantes. O método de seqüestro do radical livre DPPH pode ser utilizado para avaliar a atividade antioxidante de compostos específicos ou de um extrato em curto período de tempo. Segundo LEONG e SHUI (2002), este método tem sido uma ferramenta útil para avaliar a capacidade antioxidante de frutos.

Para a determinação das concentrações dos extratos, foram realizados diversos ensaios e verificou-se que 0,1 e 0,2 mg/mL seriam as mais adequadas no caso dos três extratos em estudo.

Os níveis de inibição da descoloração do DPPH pelo antioxidante sintético BHT foi aplicado como controle positivo para comparação com as amostras e para

validação do método. Com relação às concentrações do BHT, verificou-se por meio de diversos ensaios que a concentração 0,2 mg/mL apresentava uma porcentagem de descoloração do DPPH muito próxima daquela obtida por 0,1 mg/mL. Desse modo, optou-se pelo uso das concentrações 0,05 e 0,1 mg/mL.

Nas Tabelas 13, 14 e 15 foram reunidos os resultados de seqüestro de radicais livres pelos extratos das amostras em estudo pelo método do DPPH. A partir dos valores apresentados nas referidas Tabelas foram elaborados os gráficos apresentados na seqüência das Tabelas.

Tabela 13. Atividade antioxidante (% de descoloração do DPPH) do extrato etéreo (concentrações 0,1 e 0,2 mg/mL) obtido a partir de diferentes tipos de preparações e produtos de tomate provenientes de cultivo convencional e orgânico.

Tipo de Preparo	Lote	[] 0,1 mg/mL		[] 0,2 mg/mL	
		Convencional*	Orgânico*	Convencional*	Orgânico*
Inteiro	1	42,86 ± 0,00 ^{a A}	36,60 ± 0,60 ^{a A}	72,04 ± 0,52 ^{a A}	59,26 ± 0,15 ^{a A}
	2	36,47 ± 2,71	53,58 ± 2,35	58,59 ± 4,86	85,43 ± 3,98
Sem pele	1	19,47 ± 1,95 ^{b A}	26,26 ± 1,50 ^{b A}	33,19 ± 2,11 ^{b A}	39,53 ± 3,37 ^{b A}
	2	25,00 ± 0,48	21,70 ± 0,00	49,55 ± 1,60	44,58 ± 3,01
Sem semente	1	31,50 ± 3,54 ^{a A}	63,49 ± 0,17 ^{c B}	53,70 ± 6,65 ^{a A}	96,75 ± 2,21 ^{c B}
	2	46,01 ± 3,27	67,76 ± 0,31	72,90 ± 1,78	94,64 ± 1,10
Molho	1	16,64 ± 0,15 ^{c A}	12,84 ± 0,32 ^{d A}	23,84 ± 1,35 ^{c A}	16,90 ± 0,32 ^{d A}
	2	13,22 ± 1,46	10,60 ± 0,84	15,98 ± 0,49	18,10 ± 0,67
Purê	1	41,23 ± 1,47 ^{a A}	60,78 ± 3,27 ^{a A}	70,93 ± 1,97 ^{a A}	96,70 ± 1,56 ^{a A}
	2	40,00 ± 2,55	32,43 ± 1,00	63,50 ± 2,69	50,00 ± 9,29

*Os valores representam médias ± desvio padrão de 2 determinações de atividade antioxidante pelo método DPPH.

Valores de % de descoloração do DPPH para o BHT do ensaio a 0,05 mg/mL = 83,71% e 0,1 mg/mL = 91,53%.

**Valores com letras minúsculas iguais na mesma coluna, considerando-se o modo de preparo, indicam que não houve diferença estatisticamente significativa entre as médias ao nível de 5%.

**Valores com letras maiúsculas iguais na mesma linha, considerando-se cada concentração separadamente, quanto ao modo de cultivo, indicam que não houve diferença estatisticamente significativa entre as médias ao nível de 5%.

Figura 2. Atividade antioxidante (% de descoloração do DPPH) do extrato etéreo (concentrações 0,1 e 0,2 mg/mL) obtido a partir de diferentes tipos de preparações e produtos de tomate provenientes de cultivo convencional (C) e orgânico (O).

A partir dos resultados apresentados na Tabela 13 e na Figura 2, pode-se observar as porcentagens de descoloração do DPPH pelo extrato etéreo. Para o tomate convencional, o molho apresentou atividade antioxidante significativamente menor, seguido pelo tomate sem pele. O tomate inteiro, sem semente e o purê não apresentaram diferenças significativas e tiveram médias superiores ao molho e ao tomate sem pele.

No caso do tomate orgânico, o molho apresentou a menor ($p < 0,05$) atividade antioxidante. Em segundo lugar, com atividade antioxidante significativamente maior que a do molho, está o tomate sem pele. Os dados obtidos para o tomate inteiro e o purê não apresentaram diferença significativa e revelaram menores porcentagens de descoloração do DPPH, quando comparados ao tomate sem

semente, o qual, na concentração alta, teve desempenho superior ao do BHT (Tabela 13).

O desempenho dos extratos, tanto convencionais quanto orgânicos, pode ser justificado pela retirada da pele dos dois tipos de preparo que apresentaram a menor atividade antioxidante (molho e tomate sem pele). Conforme apresentado na Tabela 9 (item 5.1.2.3), para o tomate sem pele proveniente dos dois tipos de cultivo, registrou-se menor teor de licopeno, quando comparado às demais formas de preparo. O extrato etéreo mostrou-se eficiente no método do DPPH. De acordo com GROSS (1987), os carotenóides de material desidratado, no caso deste estudo as amostras liofilizadas, podem ser extraídos com solventes imiscíveis em água como o éter etílico. O licopeno constitui 80 a 90% dos carotenóides presentes no tomate e seus produtos. O referido carotenóide destaca-se pela sua capacidade de seqüestrar radicais livres. Os resultados mostrados na Tabela 13 confirmam esta tendência.

De acordo com os dados de GEORGE et al. (2004), a pele do fruto, além de licopeno, continha quantidades significativamente maiores de ácido ascórbico e fenólicos. Os cromatogramas de HPLC da pele e da polpa do tomate *in natura* (KIMURA e RODRIGUEZ-AMAYA, 2003) revelaram conteúdo de β -caroteno muito maior na pele dos frutos. Desse modo, a retirada da pele durante o preparo das amostras pode ter ocasionado sua menor capacidade antioxidante pelo método do DPPH.

A atividade antioxidante do licopeno tem sido exaustivamente avaliada, com base na sua habilidade de seqüestrar radicais livres, utilizando-se métodos *in vitro*, ou pela sua capacidade de proteger componentes celulares contra o dano oxidativo, utilizando-se métodos de culturas celulares ou animais (YAPING et al., 2002). De acordo com STAHL e SIES (2003), entre os vários radicais que são formados no organismo humano sob condições oxidativas, os carotenóides reagem mais eficientemente com o radical peroxila. Esses radicais são gerados no processo de peroxidação lipídica e o seqüestro dos mesmos interrompe a seqüência da reação que, finalmente, levaria ao dano nos compartimentos lipofílicos, como membranas celulares e lipoproteínas.

O licopeno é um micronutriente lipossolúvel e seus níveis são relativamente mais altos na fração lipofílica para a maioria dos alimentos (DJURIC e POWELL,

2001). RAFFO et al (2002) verificaram que a atividade antioxidante da fração lipossolúvel das amostras de tomate *in natura* resultou essencialmente dos carotenóides, particularmente do licopeno, o que foi confirmado pelo elevado valor do coeficiente de correlação entre seu conteúdo e a atividade antioxidante desta fração.

O licopeno de cor vermelha (λ_{max} 472 nm) possui uma potente atividade antioxidante. Ele é capaz de reagir com oxigênio singlete e vários radicais livres e obteve o mais alto valor de TEAC (*Trolox-equivalent antioxidant capacity*) entre todos os carotenóides (RICE-EVANS et al., 1997).

Os resultados obtidos por DEWANTO et al. (2002) demonstraram que o conteúdo de licopeno e a atividade antioxidante total aumentaram com o processamento térmico. O aumento da atividade antioxidante poderia ser explicado pelo aumento de licopeno e pela liberação de fitoquímicos da matriz pelo processamento térmico a 88°C. Outra razão poderia ser o efeito do sinergismo entre os outros compostos presentes, como os fenólicos e a vitamina C.

Ao comparar os dois tipos de cultivo (Tabela 13), verificou-se que apenas para o tomate sem semente, o orgânico apresentou atividade antioxidante significativamente maior que o convencional. Para as demais comparações não houve diferença significativa.

DJURIC e POWELL (2001) avaliaram a capacidade antioxidante e o teor de licopeno dos extratos aquosos e em acetona/metanol dos seguintes alimentos: *ketchup*, tomate *in natura*, massa de tomate, molho de tomate, sopa de tomate, suco de tomate e melancia. Segundo os autores, foi importante analisar ambas frações, aquosa e orgânica, uma vez que antioxidantes solúveis em solventes orgânicos, como o licopeno, podem estar presentes no estado de cristal nos alimentos, o que torna difícil sua detecção, ao menos que se realize uma extração específica para solubilizá-los. A extração foi realizada em duplicata para cada amostra e, posteriormente, os extratos foram analisados em duplicata.

CANO et al. (2003) estudaram as mudanças na atividade antioxidante durante o processo de amadurecimento de tomates. A atividade antioxidante foi determinada por ABTS, um método que se baseia na capacidade de diferentes componentes do extrato avaliado de seqüestrar o cátion do radical ABTS ($\text{ABTS}^{\bullet+}$) comparando-se a

um antioxidante padrão (ácido ascórbico ou Trolox) em uma curva de dose-resposta. A atividade antioxidante nos extratos hidrofílico e lipofílico foi correlacionada ao conteúdo de ácido ascórbico, fenólicos totais, licopeno e β -caroteno. Os autores verificaram que a atividade antioxidante do extrato hidrofílico e o teor de ácido ascórbico permaneceram praticamente inalterados, enquanto o nível de fenólicos no extrato aquoso aumentou com o decorrer da maturação. Os níveis de ácido ascórbico e a atividade antioxidante na fração hidrofílica foram fortemente correlacionados ($r^2 = 0,90$, $p < 0,1$). O licopeno acumulou-se nos frutos durante todo o período de amadurecimento. A atividade antioxidante na fração lipofílica seguiu o mesmo padrão que o licopeno, entre os quais foi encontrada uma boa correlação ($r^2 = 0,91$, $p < 0,05$). A atividade antioxidante do licopeno tem sido amplamente estudada, demonstrando que este é altamente eficiente contra radicais livres. A partir dos cálculos para verificar a contribuição dos carotenóides (licopeno e β -caroteno) para a atividade antioxidante na fração lipossolúvel, os autores verificaram que o mais importante antioxidante nesta fração foi o licopeno.

Tabela 14. Atividade antioxidante (% de descoloração do DPPH) do extrato alcoólico (concentrações 0,1 e 0,2 mg/mL) obtido a partir de diferentes tipos de preparações e produtos de tomate provenientes de cultivo convencional e orgânico.

Tipo de Preparo	Lote	[] 0,1 mg/mL		[] 0,2 mg/mL	
		Convencional*	Orgânico*	Convencional*	Orgânico*
Inteiro	1	9,86 ± 1,39 ^{a A}	14,04 ± 0,91 ^{a B}	21,18 ± 0,69 ^{a A}	25,54 ± 1,51 ^{a B}
	2	8,94 ± 0,73	13,30 ± 1,09	17,87 ± 1,17	25,32 ± 1,09
Sem pele	1	7,77 ± 1,35 ^{a A}	12,74 ± 1,12 ^{a B}	11,28 ± 0,00 ^{a A}	23,35 ± 0,37 ^{a B}
	2	8,82 ± 1,60	9,20 ± 0,00	15,16 ± 1,60	19,72 ± 1,20
Sem semente	1	10,43 ± 1,80 ^{a A}	11,87 ± 0,25 ^{a A}	19,54 ± 0,47 ^{a A}	28,08 ± 1,53 ^{a A}
	2	8,72 ± 1,04	10,64 ± 1,08	17,34 ± 0,45	22,15 ± 0,62
Molho	1	7,17 ± 0,25 ^{a A}	11,59 ± 0,14 ^{a B}	13,98 ± 0,00 ^{a A}	17,68 ± 0,79 ^{a B}
	2	8,40 ± 1,14	11,43 ± 1,68	11,26 ± 0,00	18,10 ± 0,00
Purê	1	7,62 ± 1,36 ^{a A}	13,09 ± 0,59 ^{a B}	14,27 ± 1,37 ^{a A}	20,39 ± 1,56 ^{a B}
	2	6,17 ± 1,63	9,69 ± 0,17	14,44 ± 3,26	19,25 ± 0,48

*Os valores representam médias ± desvio padrão de 2 determinações de atividade antioxidante pelo método DPPH.

Valores de % de descoloração do DPPH para o BHT do ensaio a 0,05 mg/mL = 83,71% e 0,1 mg/mL = 91,53%.

**Valores com letras minúsculas iguais na mesma coluna, considerando-se o modo de preparo, indicam que não houve diferença estatisticamente significativa entre as médias ao nível de 5%.

***Valores com letras maiúsculas iguais na mesma linha, considerando-se cada concentração separadamente, quanto ao modo de cultivo, indicam que não houve diferença estatisticamente significativa entre as médias ao nível de 5%.

A partir dos valores apresentados na Tabela 14, foi elaborado o gráfico (Figura 3) mostrado a seguir.

Figura 3. Atividade antioxidante (% de descoloração do DPPH) do extrato alcoólico (concentrações 0,1 e 0,2 mg/mL) obtido a partir de diferentes tipos de preparações e produtos de tomate provenientes de cultivo convencional (C) e orgânico (O).

De acordo com os resultados apresentados na Tabela 14 e representados graficamente na Figura 3, pode-se observar que a atividade antioxidante pela porcentagem de descoloração do DPPH pelo extrato alcoólico, tanto para o tomate convencional quanto para o orgânico, em todos as formas de preparo, não diferiram significativamente. Tal fato pode ser explicado pelo conteúdo muito próximo (entre preparações e produtos) de compostos fenólicos presentes no extrato alcoólico, conforme apresentado na Tabela 11. Uma análise de HPLC do extrato metanólico de tomates realizada por TAKEOKA et al. (2001) identificou dois polifenóis como os principais constituintes, os ácidos caféico e clorogênico. Possivelmente estes compostos estariam agindo como antioxidantes no extrato etanólico.

Comparando-se os dois tipos de cultivo, apenas para o tomate sem semente não houve diferenças significativas entre orgânico e convencional, para as demais preparações e produtos o tomate orgânico apresentou percentual maior ($p < 0,05$) que o convencional. Tal fato pode ser explicado com base nos resultados mostrados na Tabela 8, referente aos teores de fenólicos totais das amostras em estudo, onde se

verificou que o tomate orgânico apresentou maior teor de fenólicos totais para todas as preparações e produtos. No entanto, quando se quantificou os teores de fenólicos totais nos extratos alcoólicos das amostras (Tabela 11), a média de fenólicos totais foi a mesma para orgânicos e convencionais.

Tabela 15. Atividade antioxidante (% de descoloração do DPPH) do extrato aquoso (concentrações 0,1 e 0,2 mg/mL) obtido a partir de diferentes tipos de preparações e produtos de tomate provenientes de cultivo convencional e orgânico.

Tipo de Preparo	Lote	[] 0,1 mg/mL		[] 0,2 mg/mL	
		Convencional*	Orgânico*	Convencional*	Orgânico*
Inteiro	1	7,27 ± 0,52 ^{a A}	8,34 ± 2,16 ^{a A}	12,19 ± 0,52 ^{a A}	14,36 ± 1,36 ^{a A}
	2	7,09 ± 0,15	8,57 ± 0,54	10,47 ± 0,00	14,20 ± 1,27
Sem pele	1	3,94 ± 1,05 ^{ab A}	9,36 ± 2,52 ^{a B}	6,81 ± 0,91 ^{ab A}	17,11 ± 0,18 ^{a B}
	2	6,23 ± 0,80	6,61 ± 2,00	11,39 ± 0,21	12,03 ± 0,00
Sem semente	1	7,70 ± 0,16 ^{ab A}	10,12 ± 2,05 ^{a B}	11,44 ± 0,70 ^{ab A}	20,97 ± 1,36 ^{a B}
	2	4,73 ± 0,15	8,44 ± 0,78	7,88 ± 0,15	13,82 ± 2,17
Molho	1	9,22 ± 0,15 ^{ab A}	11,71 ± 0,64 ^{a A}	11,44 ± 0,59 ^{ab A}	17,57 ± 1,91 ^{a A}
	2	7,24 ± 0,16	8,69 ± 0,51	7,36 ± 0,65	11,31 ± 0,51
Purê	1	4,40 ± 0,76 ^{b A}	7,30 ± 0,98 ^{a B}	9,55 ± 0,16 ^{b A}	13,23 ± 0,39 ^{a B}
	2	5,02 ± 0,30	8,72 ± 0,00	7,53 ± 0,89	12,00 ± 0,42

*Os valores representam médias ± desvio padrão de 2 determinações de atividade antioxidante pelo método DPPH.

Valores de % de descoloração do DPPH para o BHT do ensaio a 0,05 mg/mL = 83,71% e 0,1 mg/mL = 91,53%.

**Valores com letras minúsculas iguais na mesma coluna, considerando-se o modo de preparo, indicam que não houve diferença estatisticamente significativa entre as médias ao nível de 5%.

**Valores com letras maiúsculas iguais na mesma linha, considerando-se cada concentração separadamente, quanto ao modo de cultivo, indicam que não houve diferença estatisticamente significativa entre as médias ao nível de 5%.

Tendo por base os valores apresentados na Tabela 15, foi elaborado o gráfico apresentado a seguir (Figura 4).

Figura 4. Atividade antioxidante (% de descoloração do DPPH) do extrato aquoso (concentrações 0,1 e 0,2 mg/mL) obtido a partir de diferentes tipos de preparações e produtos de tomate provenientes de cultivo convencional (C) e orgânico (O).

A partir dos resultados apresentados na Tabela 15 e na Figura 4, pode-se observar, para o extrato aquoso, que não houve diferença significativa entre as médias obtidas tendo por base os diferentes tipos de preparo para os dois modos de cultivo (orgânico e convencional), exceto para o tomate convencional inteiro, apresentou atividade antioxidante média significativamente maior que o purê convencional.

Considerando-se o modo de cultivo, no caso do extrato aquoso, apenas os dados relativos ao tomate inteiro e o molho não apresentaram diferenças significativas, para os demais modos de preparo (sem pele, sem semente e purê) o tomate orgânico apresentou percentual médio de atividade antioxidante maior ($p < 0,05$) que o tomate convencional. Tal fato pode ser explicado com base nos resultados apresentados na Tabela 12, onde foi possível observar que os teores de fenólicos totais e de ácido ascórbico do extrato aquoso para o tomate orgânico, em todas as formas de preparo, foram significativamente maiores que o tomate convencional. Entretanto, quando se avaliou o teor de ácido ascórbico das amostras

(Tabela 7), verificou-se superioridade tanto para o tomate inteiro quanto para o molho provenientes do cultivo orgânico, em relação a seus similares convencionais. Estas incoerências entre resultados podem ter ocorrido devido à variabilidade da matéria-prima.

Avaliando-se o desempenho dos três extratos, observou-se para o tomate convencional, que o extrato etéreo apresentou percentual antioxidante médio significativamente maior que o alcoólico e o aquoso, para todos os tipos de preparo. O extrato alcoólico apresentou percentual médio maior ($p < 0,05$) que o aquoso para todos os modos de preparo, com exceção do molho, onde não houve diferença significativa entre os dois extratos. Com base neste resultado, pode-se inferir que o extrato alcoólico continha outras substâncias ativas, além dos compostos fenólicos, que apresentaram capacidade de doar hidrogênio para o radical DPPH, como um possível mecanismo para sua atividade antioxidante. Observou-se que os extratos alcoólicos apresentavam cor levemente amarelada, portanto, pequenas quantidades de carotenóides podem ter sido solubilizadas em etanol. No estudo de KAUR e KAPOOR (2002), dois diferentes solventes (água e etanol) foram utilizados para extração de diversos vegetais, entre eles o tomate. Os autores apontaram o etanol com sendo mais eficiente do que a água para extrair antioxidantes presentes em hortaliças, especialmente para os carotenóides.

No caso do tomate orgânico, o extrato etéreo apresentou percentual médio de atividade antioxidante significativamente maior que os extratos alcoólico e aquoso para todos os preparos, com exceção do molho, que não apresentou diferença significativa entre extrato etéreo, alcoólico e aquoso. Para o tomate inteiro, sem pele e purê, o extrato alcoólico apresentou percentual médio de atividade antioxidante maior ($p < 0,05$) que o extrato aquoso, para os preparos sem semente e molho não houve diferenças significativas para estes extratos.

Os extratos metanólico e aquoso de cogumelos avaliados por CHEUNG et al. (2003) apresentaram capacidade de sequestrar DPPH em concentração entre 1,5 e 9 mg/mL, sendo que na concentração 1 mg/mL não foi observada atividade antioxidante dos extratos avaliados por este método. O extrato metanólico a 9 mg/mL demonstrou a maior atividade antioxidante (57,8%), porém, este valor ficou abaixo do padrão TBHQ a 1 mg/mL (94,8%).

MARTINEZ-VALVERDE et al. (2002) avaliaram a atividade antioxidante dos extratos etanólico (etanol a 50%) e aquoso obtidos a partir de tomates, utilizando o teste do DPPH e classificaram os valores obtidos para os extrato como de baixa eficiência anti-radical. A justificativa para este resultado foi a ação antioxidante observada para compostos puros no sistema DPPH. Neste caso, a quercetina e o ácido clorogênico, as principais fontes de compostos fenólicos em tomates, seriam considerados de baixa eficiência.

O potencial total da capacidade de seqüestrar o DPPH dos extratos, para todas as formas de preparo e concentrações, está demonstrado no gráfico abaixo.

Figura 5. Atividade antioxidante (% de descoloração do DPPH) dos extratos etéreo, alcoólico e aquoso obtidos a partir de diferentes tipos de preparações e produtos de tomate provenientes de cultivo convencional e orgânico.

De modo geral, pode-se concluir que houve uma expressiva atividade de seqüestro do radical DPPH em todas as concentrações e extratos testados. A porcentagem de descoloração do DPPH aumentou conforme houve o aumento da concentração dos extratos. Para as duas concentrações (alta e baixa), o extrato etéreo apresentou atividade antioxidante superior em relação aos outros extratos. O extrato alcoólico apresentou média maior que o extrato aquoso.

As frações solúveis em éter etílico, etanol e água comportaram-se de modo distinto no teste do DPPH. Como tendência geral, foi observado um aumento da porcentagem de descoloração do DPPH com o aumento da concentração do extrato. Desse modo, observou-se que a atividade antioxidante das amostras depende do tipo de solvente utilizado para a extração de compostos antioxidantes e da concentração do extrato aplicado ao teste.

MENSOR et al. (2001) testaram diversos extratos de plantas brasileiras pelo método do DPPH e observaram que a polaridade dos solventes influenciou consideravelmente a atividade antioxidante dos extratos.

De acordo com KAUR e KAPOOR (2001), o método do DPPH é menos sensível que outros métodos para a avaliação de antioxidantes hidrofílicos. Os resultados obtidos utilizando-se o método do DPPH geralmente demonstram que a interação do antioxidante com o DPPH depende da conformação estrutural do composto.

Em estudo realizado por ISHIDA e CHAPMAN (2004), a atividade antioxidante para as frações hidrofílica e lipofílica dos extratos de *ketchup* foi medida pelo método ABTS. A atividade antioxidante da fração lipofílica, resultante da atividade antioxidante do licopeno e de outros compostos lipofílicos, foi maior quando comparada à atividade da fração hidrofílica. As marcas de *ketchup* orgânico obtiveram a maior capacidade antioxidante total.

REN et al. (2001) compararam as atividades antioxidantes de hortaliças produzidas por dois diferentes métodos. Ressalte-se que cultivares idênticas foram utilizadas para a comparação entre cultivos. O espinafre orgânico apresentou atividade 120% mais alta do que o convencional, demonstrando uma pronunciada diferença na atividade devido ao método de cultivo. O alho, repolho e a couve orgânicos tiveram atividade antioxidante 20 a 50% superior aos seus correspondentes convencionais. O pimentão verde foi a única hortaliça testada, cujos resultados obtidos não demonstraram nenhuma diferença com relação ao efeito antioxidante decorrente do método de cultivo.

LARROSA et al. (2002a) observaram que a atividade antioxidante de extratos obtidos a partir de suco de tomate pelo método DPPH ocorreu, principalmente, devido aos antioxidantes presentes na fração hidrofílica e não devido ao conteúdo de

licopeno presente na fração hidrofóbica. Entretanto, situação contrária ocorreu na presente pesquisa, o que pode ser atribuído à utilização de diferentes solventes para extração dos compostos antioxidantes.

A maior atividade antioxidante entre diversos cultivares de tomate avaliados por TAKEOTA et al. (2001) foi para os extratos lipofílico e metanólico do tomate cereja. A alta atividade antioxidante deste cultivar pode ser explicada com base em seu mais alto teor de licopeno, ácido ascórbico e compostos fenólicos em relação à outros cultivares.

5.3.2 Avaliação da atividade antioxidante pela inibição da oxidação lipídica - Sistema β -caroteno/ácido linoléico

Para a determinação das concentrações dos extratos a serem aplicados no teste, foram realizados diversos ensaios e verificou-se que as mais adequadas, no caso do extrato etéreo seriam $1,25 \times 10^{-2}$ e $2,5 \times 10^{-2}$ mg/mL, uma vez que em concentrações maiores os extratos agiram como pró-oxidantes. Para os extratos alcoólico e aquoso, as concentrações determinadas foram 0,5 e 1,0 mg/mL. Para o BHT utilizou-se 0,1 e 0,2 mg/mL, sendo que o último valor consiste do limite máximo para o uso deste aditivo em alimentos no Brasil, de acordo com a Resolução do Conselho Nacional de Vigilância Sanitária (CNS) nº 04/88, de 24 de novembro de 1988, publicada no Diário Oficial da União de 19 de dezembro de 1988.

O sistema β -caroteno/ácido linoléico é constituído por uma emulsão, sendo considerado assim um sistema aquoso-lipídico. Neste método a atividade antioxidante é avaliada pela capacidade de um extrato ou antioxidante inibir o processo de oxidação no sistema, em um total de 2 horas.

Nas Tabelas 16, 17 e 18 foram reunidos os resultados de inibição da oxidação lipídicas pelos extratos das amostras em estudo pelo sistema β -caroteno/ácido linoléico. A partir dos valores apresentados nas referidas Tabelas foram elaboradas as Figuras 6, 7 e 8, mostradas a seguir.

Tabela 16. Atividade antioxidante (% de inibição da oxidação lipídica) do extrato etéreo (concentrações $1,25 \times 10^{-2}$ e $2,5 \times 10^{-2}$ mg/mL) obtido a partir de diferentes tipos de preparações e produtos de tomate provenientes de cultivo convencional e orgânico.

Tipo de Preparo	Lote	[] $1,25 \times 10^{-2}$ mg/mL		[] $2,5 \times 10^{-2}$ mg/mL	
		Convencional*	Orgânico*	Convencional*	Orgânico*
Inteiro	1	$11,72 \pm 0,00^{ac\ A}$	$16,84 \pm 0,29^{a\ A}$	$11,23 \pm 1,76^{ac\ A}$	$16,53 \pm 0,14^{a\ A}$
	2	$15,53 \pm 0,00$	$6,80 \pm 2,80$	$12,63 \pm 1,48$	$7,51 \pm 3,80$
Sem pele	1	$15,02 \pm 1,52^{ac\ A}$	$23,07 \pm 1,73^{b\ B}$	$14,21 \pm 2,66^{ac\ A}$	$20,51 \pm 1,30^{b\ B}$
	2	$11,86 \pm 0,21$	$14,88 \pm 0,39$	$12,43 \pm 1,01$	$11,71 \pm 0,59$
Sem semente	1	$15,53 \pm 0,74^{a\ A}$	$15,06 \pm 0,22^{ab\ B}$	$17,77 \pm 0,93^{a\ A}$	$14,99 \pm 1,27^{ab\ B}$
	2	$6,80 \pm 0,04$	$15,64 \pm 3,39$	$5,49 \pm 3,19$	$14,37 \pm 3,19$
Molho	1	$17,84 \pm 1,91^{b\ A}$	$11,54 \pm 0,16^{a\ B}$	$18,38 \pm 1,53^{b\ A}$	$14,07 \pm 2,17^{b\ A}$
	2	$21,56 \pm 1,27$	$8,73 \pm 2,20$	$20,68 \pm 4,62$	$8,57 \pm 0,22$
Purê	1	$19,56 \pm 0,00^{bc\ A}$	$11,80 \pm 0,46^{b\ A}$	$18,22 \pm 1,21^{bc\ A}$	$11,47 \pm 3,37^{bc\ A}$
	2	$15,18 \pm 0,49$	$24,77 \pm 0,67$	$11,55 \pm 5,12$	$22,74 \pm 1,51$

*Os valores representam médias $\pm$ desvio padrão de 2 determinações de atividade antioxidante pelo sistema β -caroteno / ácido linoléico.

Valores de % de inibição da oxidação lipídica para o BHT do ensaio a $0,1 \text{ mg/mL} = 52,12\%$ e $0,2 \text{ mg/mL} = 62,33\%$.

**Valores com letras minúsculas iguais na mesma coluna, considerando-se o modo de preparo, indicam que não houve diferença estatisticamente significativa entre as médias ao nível de 5%.

**Valores com letras maiúsculas iguais na mesma linha, considerando-se cada concentração separadamente, quanto ao modo de cultivo, indicam que não houve diferença estatisticamente significativa entre as médias ao nível de 5%.

Não houve um aumento da inibição da oxidação conforme se aumentou a concentração dos extratos etéreos testados. Este fato pode ser justificado pelo ponto de ebulição do éter etílico (34°C), que é inferior à temperatura do “banho-maria” (50°C), no qual as soluções permaneceram por 2 horas. Desse modo, no decorrer do teste, pode ter ocorrido alguma alteração na concentração dos extratos.

Os resultados dos extratos etéreos foram inferiores ao do BHT.

Figura 6. Atividade antioxidante (% de inibição da oxidação lipídica) do extrato etéreo (concentrações $1,25 \times 10^{-2}$ e $2,5 \times 10^{-2}$ mg/mL) obtido a partir de diferentes tipos de preparações e produtos de tomate provenientes de cultivo convencional (C) e orgânico (O).

De acordo com a Tabela 16 e com a Figura 6, para o tomate convencional, o molho apresentou atividade antioxidante significativamente maior que as preparações (inteiro, sem pele e sem semente) e não apresentou diferença significativa em relação ao purê, que obteve maior ($p < 0,05$) atividade antioxidante que o tomate sem semente. Para as demais comparações não houve diferença significativa.

No caso do cultivo orgânico, o tomate inteiro não apresentou diferença significativa em relação ao molho, sendo que ambos revelaram menor ($p < 0,05$) atividade antioxidante que o sem pele e o purê. Os resultados obtidos para o tomate sem semente não apresentaram diferenças significativas, quando comparados àqueles obtidos para os demais tipos de preparo.

Quando se comparou cultivo orgânico e convencional, observa-se que a atividade antioxidante do molho convencional foi significativamente maior que do molho orgânico. No entanto, para os tomates sem pele e sem semente, o orgânico apresentou valores médios significativamente maiores que o tomate convencional.

Tabela 17. Atividade antioxidante (% de inibição da oxidação lipídica) do extrato alcoólico (concentrações 0,5 e 1,0 mg/mL) obtido a partir de diferentes tipos de preparações e produtos de tomate provenientes de cultivo convencional e orgânico.

Tipo de Preparo	Lote	[] 0,5 mg/mL		[] 1,0 mg/mL	
		Convencional*	Orgânico*	Convencional*	Orgânico*
Inteiro	1	30,17 ± 0,00 ^{a A}	31,57 ± 0,95 ^{a A}	39,40 ± 1,41 ^{a A}	38,61 ± 2,61 ^{a A}
	2	33,42 ± 0,37	28,64 ± 2,37	44,61 ± 0,93	40,09 ± 0,21
Sem pele	1	32,17 ± 1,90 ^{a A}	40,92 ± 4,19 ^{a A}	38,21 ± 1,70 ^{a A}	41,84 ± 1,73 ^{a A}
	2	37,29 ± 2,23	39,12 ± 4,29	43,14 ± 2,83	42,01 ± 4,09
Sem semente	1	27,76 ± 2,42 ^{a A}	30,50 ± 0,56 ^{a A}	30,92 ± 0,93 ^{a A}	40,16 ± 3,32 ^{a A}
	2	32,26 ± 1,21	39,86 ± 1,80	41,45 ± 2,97	43,24 ± 2,98
Molho	1	35,28 ± 0,19 ^{a A}	29,34 ± 1,71 ^{a A}	40,00 ± 2,67 ^{a A}	29,01 ± 0,00 ^{a A}
	2	38,62 ± 0,00	33,65 ± 0,88	40,96 ± 2,89	43,15 ± 0,66
Purê	1	30,20 ± 1,56 ^{a A}	39,14 ± 3,15 ^{a A}	37,29 ± 2,25 ^{a A}	40,91 ± 2,14 ^{a A}
	2	40,00 ± 1,46	39,53 ± 1,11	42,93 ± 1,22	42,91 ± 0,06

*Os valores representam médias ± desvio padrão de 2 determinações de atividade antioxidante pelo sistema β-caroteno / ácido linoléico.

Valores de % de inibição da oxidação lipídica para o BHT do ensaio a 0,1 mg/mL = 52,12% e 0,2 mg/mL = 62,33%.

**Valores com letras minúsculas iguais na mesma coluna, considerando-se o modo de preparo, indicam que não houve diferença estatisticamente significativa entre as médias ao nível de 5%.

***Valores com letras maiúsculas iguais na mesma linha, considerando-se cada concentração separadamente, quanto ao modo de cultivo, indicam que não houve diferença estatisticamente significativa entre as médias ao nível de 5%.

A partir dos valores apresentados na Tabela 17, foi elaborada a Figura 7, mostrada a seguir.

Figura 7. Atividade antioxidante (% de inibição da oxidação lipídica) do extrato alcoólico (concentrações 0,5 e 1,0 mg/mL) obtido a partir de diferentes tipos de preparações e produtos de tomate provenientes de cultivo convencional (C) e orgânico (O).

De acordo com a Tabela 17 e com a Figura 7, verifica-se, para a porcentagem de inibição da oxidação lipídica pelo extrato alcoólico, que não foi identificada diferença significativa entre os diversos tipos de preparo, tanto para o cultivo orgânico quanto para o convencional. Similarmente, não foram encontradas diferenças significativas quando se comparou as respectivas preparações e produtos provenientes do cultivo orgânico e convencional. A ausência de diferenças entre o desempenho destes extratos pode ter ocorrido devido à proximidade de valores médios obtidos para os teores de fenólicos totais dos extratos alcoólicos (Tabela 11).

Tabela 18. Atividade antioxidante (% de inibição da oxidação lipídica) do extrato aquoso (concentrações 0,5 e 1,0 mg/mL) obtido a partir de diferentes tipos de preparações e produtos de tomate provenientes de cultivo convencional e orgânico.

Tipo de Preparo	Lote	[] 0,5 mg/mL		[] 1,0 mg/mL	
		Convencional*	Orgânico*	Convencional*	Orgânico*
Inteiro	1	34,17 ± 0,35 ^{a A}	36,65 ± 0,44 ^{a B}	34,67 ± 1,76 ^{a A}	44,36 ± 1,75 ^{a B}
	2	30,40 ± 0,56	30,17 ± 2,21	37,50 ± 1,30	36,12 ± 1,80
Sem pele	1	32,31 ± 0,57 ^{a A}	42,04 ± 0,58 ^{a B}	39,55 ± 0,19 ^{a A}	46,43 ± 1,88 ^{a B}
	2	30,29 ± 0,81	36,78 ± 0,19	35,15 ± 1,21	41,88 ± 1,94
Sem semente	1	34,35 ± 0,56 ^{a A}	29,58 ± 0,37 ^{a B}	36,58 ± 1,48 ^{a A}	41,84 ± 0,32 ^{a B}
	2	26,77 ± 0,00	38,31 ± 1,20	30,48 ± 3,42	39,58 ± 1,80
Molho	1	36,90 ± 0,95 ^{a A}	33,74 ± 0,78 ^{a A}	37,71 ± 0,19 ^{a A}	40,22 ± 0,00 ^{a A}
	2	38,92 ± 0,42	32,56 ± 0,66	42,97 ± 2,33	37,54 ± 2,42
Purê	1	32,89 ± 1,21 ^{a A}	31,50 ± 1,38 ^{a B}	39,24 ± 0,17 ^{a A}	38,96 ± 1,84 ^{a B}
	2	34,14 ± 0,49	42,74 ± 2,86	38,11 ± 0,25	45,36 ± 1,85

*Os valores representam médias ± desvio padrão de 2 determinações de atividade antioxidante pelo sistema β-caroteno / ácido linoléico.

Valores de % de inibição da oxidação lipídica para o BHT do ensaio a 0,1 mg/mL = 52,12% e 0,2 mg/mL = 62,33%.

**Valores com letras minúsculas iguais na mesma coluna, considerando-se o modo de preparo, indicam que não houve diferença estatisticamente significativa entre as médias ao nível de 5%.

***Valores com letras maiúsculas iguais na mesma linha, considerando-se cada concentração separadamente, quanto ao modo de cultivo, indicam que não houve diferença estatisticamente significativa entre as médias ao nível de 5%.

A partir dos valores apresentados na Tabela 17, foi elaborada a Figura 8, mostrada na seqüência.

Figura 8. Atividade antioxidante (% de inibição da oxidação lipídica) do extrato aquoso (concentrações 0,5 e 1,0 mg/mL) obtido a partir de diferentes tipos de preparações e produtos de tomate provenientes de cultivo convencional (C) e orgânico (O).

Os resultados reunidos na Tabela 18 e na Figura 8 mostram o desempenho do extrato aquoso quanto à inibição da oxidação lipídica pelo sistema β -caroteno/ácido linolêico. Pode-se observar, tanto para o cultivo convencional quanto para o orgânico, que não houve diferença significativa entre os dados obtidos para os tipos de preparo. No entanto, quando comparou-se os resultados obtidos tendo por base os dois modos de cultivo, o tomate orgânico apresentou maior ($p < 0,05$) média de atividade antioxidante para praticamente todos os modos de preparo, exceto para o molho.

Considerando-se a ação de compostos fenólicos e do ácido ascórbico como antioxidantes no extrato aquoso, pode-se inferir que a superioridade do tomate orgânico com relação ao teor de fenólicos totais das amostras (Tabela 8) somada a seus maiores teores de ácido ascórbico e fenólicos totais no extrato aquoso (Tabela 12), seja a possível causa da maior atividade antioxidante das preparações e do purê orgânicos.

É plausível que a atividade antioxidante total dependa também do efeito sinérgico entre todos os antioxidantes hidrossolúveis e de suas interações com outros constituintes desta fração.

TOOR et al. (2006) verificaram a influência de diferentes tipos de fertilizantes sobre os principais componentes antioxidantes de tomates. Os autores registraram que, devido à maior disponibilidade de nitrogênio e ao melhor crescimento das plantas adubadas com soluções minerais, a produção de metabólitos secundários (fenólicos e ácido ascórbico), que estão envolvidos na defesa da planta, foi reduzida e esta diminuição pode ter resultado na menor atividade antioxidante observada para os tomates convencionais.

KAUR e KAPOOR (2002) avaliaram 36 hortaliças consumidas na Índia, entre elas o tomate, quanto à atividade antioxidante pelo método do β -caroteno/ácido linoléico e quantificaram o conteúdo de fenólicos totais pelo método de Folin. Os extratos etanólico (etanol a 80%) e aquoso do tomate apresentaram porcentagem de inibição da oxidação lipídica de 70,8 e 56,3%, respectivamente. Porém, os autores não mencionaram as concentrações dos extratos aplicados no teste. A atividade antioxidante demonstrou uma correlação significativa e positiva com os fenólicos totais ($r^2 = 0,66$; $p < 0,05$). Portanto, os resultados da presente pesquisa estão de acordo com KAUR e KAPOOR (2002), ao identificarem que os extratos etanólico e aquoso de tomates apresentam significativa atividade antioxidante utilizando o método do β -caroteno/ácido linoléico.

Considerando-se a classificação estabelecida por KAUR e KAPOOR (2002), o tomate apresentou expressiva atividade antioxidante e baixo conteúdo de fenólicos totais. Assim, os autores inferiram que outros compostos, tais como: os carotenóides, o ácido ascórbico e o α -tocoferol, agiram como antioxidantes nos extratos, principalmente no caso do extrato etanólico. Há também recomendação dos autores que a atividade antioxidante de hortaliças seja avaliada por meio da adoção de diferentes métodos, ao invés de depender dos resultados de um único método.

No estudo de CHEUNG et al. (2003), o extrato aquoso do cogumelo shiitake a 20 mg/mL exibiu 75,9% de inibição da oxidação lipídica pelo sistema β -caroteno/ácido linoléico, que foi comparada ao padrão TBHQ a 2 mg/mL, o qual apresentou 82,2% de inibição.

GAHLER et al. (2003) observaram que a atividade antioxidante da fração hidrofílica aumentou durante a elaboração de tomate assado, molho e sopa de tomate, embora o conteúdo de vitamina C destes produtos tenha diminuído. Esta elevação está baseada, principalmente, no maior conteúdo de compostos fenólicos (TAKEOKA et al., 2001). Outra razão para o aumento da capacidade antioxidante da fração hidrofílica seria a formação dos produtos da reação de Maillard, que são substâncias antioxidantes formadas a altas temperaturas. Tais compostos podem compensar a perda de vitamina C ou mesmo levar a um aumento da atividade antioxidante da fração hidrofílica (NICOLI et al., 1997).

O potencial total da inibição da oxidação lipídica pelos extratos, para todas as formas de preparo e concentrações, pode ser visualizado por meio da análise da Figura 9. Avaliando-se o desempenho dos três extratos, observa-se para os dois tipos de cultivo, que as médias de atividade antioxidante dos extratos alcoólico e aquoso foram significativamente maiores do que do extrato etéreo.

Figura 9. Atividade antioxidante (% inibição da oxidação lipídica) dos extratos etéreo, alcoólico e aquoso obtidos a partir de diferentes tipos de preparações e produtos de tomate provenientes do cultivo convencional e orgânico.

Tanto para a concentração alta quanto para a baixa, as médias dos extratos alcoólico e aquoso foram maiores ($p < 0,05$) que a do etéreo. Não houve diferença significativa entre os dados relativos aos extratos alcoólico e aquoso com relação à atividade antioxidante média.

Os extratos alcoólico e aquoso (Tabelas 17 e 18) na concentração alta apresentaram médias superiores a concentração baixa. Porém, no extrato etéreo não houve diferença significativa entre os resultados das duas concentrações.

Levando-se em consideração a eficiência antioxidante do extrato etéreo, é interessante observar que sua capacidade de seqüestrar radicais livres é superior ao seu poder de inibir a oxidação lipídica. Portanto, a capacidade antioxidante deste extrato relaciona-se fortemente à sua habilidade de seqüestrar radicais livres, provavelmente, devido à presença de licopeno, do que à sua efetividade como inibidor da oxidação lipídica.

Até o presente momento, não existem publicações científicas que abordem a eficiência antioxidante dos extratos etéreo, etanólico e aquoso de tomate e seus produtos, que tenham sido obtidos por meio da extração seqüencial e, ainda, aplicados aos testes DPPH e sistema β -caroteno/ácido linoléico nas mesmas concentrações utilizadas na presente pesquisa. O BHT não foi incluído como um controle positivo nas diversas pesquisas. Portanto, não foi possível estabelecer comparações, diretamente aos valores apresentados por diversos autores, tendo por base os resultados obtidos nesta pesquisa.

CHEUNG et al. (2003) utilizaram o sistema β -caroteno e ácido linoléico para avaliar a atividade antioxidante de cogumelos e observaram que os extratos aquosos apresentaram atividade antioxidante significativamente ($p < 0,05$) mais elevada quando comparados aos extratos metanólicos, o que os autores atribuíram ao fato do extrato aquoso apresentar maior conteúdo de fenólicos totais. Ainda de acordo com CHEUNG et al. (2003), a atividade antioxidante dos extratos metanólico e aquoso aumentou gradualmente conforme houve o aumento da concentração dos extratos. No entanto, KAUR e KAPOOR (2002), utilizando o método do β -caroteno e ácido linoléico para a medição da atividade antioxidante de diversas hortaliças, demonstraram que o extrato alcoólico das hortaliças obteve melhores valores antioxidantes quando comparado ao extrato aquoso.

De acordo com MARTINEZ-VALVERDE et al. (2002), a atividade antioxidante dos extratos de frutas e hortaliças depende de diversos fatores, incluindo o método analítico, a variedade da planta e a origem geográfica do alimento. Os autores utilizaram dois métodos analíticos (DPPH e ABTS) baseados na mesma propriedade, a capacidade de seqüestro do radical, para avaliar a atividade antioxidante dos extratos obtidos a partir de diversos cultivares de tomate. Entretanto, as amostras apresentaram desempenho distinto nos dois testes citados. Tal diferença foi atribuída ao solvente utilizado para a extração. O extrato água/etanol (1:1) utilizado no teste do DPPH poderia favorecer a extração de baixas quantidades de carotenóides, como o licopeno, além de compostos fenólicos. Porém, não houve correlação entre o conteúdo total de licopeno e a eficiência anti-radical, principalmente devido à solubilização do licopeno, que requer um solvente mais apolar. O extrato aquoso utilizado no teste do ABTS, provavelmente, continha outros compostos antioxidantes presentes no tomate, como a vitamina C, que pode ter contribuído para a atividade antioxidante deste extrato.

Portanto, no estudo de MARTINEZ-VALVERDE et al. (2002), ficou evidente que a capacidade antioxidante das amostras de tomate foram dependentes do solvente utilizado para extração e do método utilizado para avaliação do extrato. Os autores mostraram por meio de correlação de dados, que nenhum dos compostos ou grupos de compostos foi suficiente para definir a capacidade antioxidante total dos tecidos vegetais e que uma avaliação multi-fatorial é necessária, uma vez que outros antioxidantes presentes no tomate podem produzir um efeito sinérgico, contribuindo para a atividade antioxidante total.

LAVELLI et al. (2000) avaliaram o conteúdo de compostos antioxidantes e a atividade antioxidante de dois cultivares de tomate *in natura* e de dois produtos de tomate (massa e purê). As frações hidrofílica e lipofílica foram extraídas e avaliadas quanto ao conteúdo de antioxidantes (ácido ascórbico, fenólicos totais e carotenóides) e quanto à atividade antioxidante por três diferentes métodos. Os resultados demonstraram que as frações hidrofílica e lipofílica das amostras foram capazes de afetar as reações, nas quais espécies reativas de oxigênio e catalisadores foram utilizados para induzir a oxidação. As duas cultivares de tomate *in natura* diferiram consideravelmente em relação à atividade antioxidante nas frações

hidrofílica e lipofílica. Os tomates processados apresentaram atividade antioxidante significativamente menor do que os tomates *in natura* para a fração hidrofílica, mas tiveram uma maior atividade antioxidante na fração lipofílica.

ANESE et al. (2002) levantaram a hipótese de que a perda, decorrente da adoção do processo térmico, de antioxidantes naturalmente presentes em tomates, seria contra balanceada pela formação de outros compostos antioxidantes induzidos pelo aquecimento, como os produtos do escurecimento não-enzimático da Reação de Maillard. Os autores sugeriram a otimização dos processos de aquecimento para obtenção de produtos derivados de tomate, para que ocorra uma melhor retenção da cor e da atividade antioxidante dos produtos. Desse modo, o processamento deveria ser baseado na aplicação de baixa temperatura por tempo prolongado ao invés de processos com alta temperatura por curto período de tempo. Considerando-se o interesse crescente pelos alimentos funcionais, estes resultados são importantes para a indústria de produtos de tomate, pois os autores demonstraram que a otimização do processamento pode representar uma valiosa ferramenta para manter as propriedades funcionais dos derivados de tomate.

Deve-se destacar que o propósito dos testes *in vitro* foi de avaliar a atividade antioxidante potencial das amostras de tomate, uma vez que extrapolações para sistemas *in vivo* requerem pesquisas mais detalhadas sobre, por exemplo, biodisponibilidade, relação entre atividade antioxidante e estrutura química das substâncias, entre outras, o que está além do objetivo da presente pesquisa.

Levando-se em consideração os resultados obtidos, a capacidade antioxidante das amostras demonstrou-se dependente tanto do solvente utilizado para a extração quanto do método (DPPH e β -caroteno/ácido linoléico), tal como foi observado em estudos anteriores (LARROSA et al., 2002b; MARTINEZ-VALVERDE et al., 2002). Desse modo, observou-se que os extratos etéreos, provavelmente ricos em licopeno, demonstraram maior atividade antioxidante quando analisados pelo teste do DPPH. De acordo com STAHL e SIES (1996) o licopeno é efetivo no seqüestro de radicais livres. No entanto, os compostos fenólicos dos extratos alcoólico e aquoso, que têm sido apontados por demonstrarem alta atividade antioxidante em emulsões lipídicas (CHEUNG et al., 2003), alcançaram maior atividade antioxidante

no sistema β -caroteno e ácido linoléico, em contraste de sua menor efetividade contra radicais livres, como se observou no teste do DPPH.

LAVELLI et al. (2000) destacaram que a avaliação da atividade antioxidante de amostras biológicas depende do tipo de radical livre ou do substrato oxidante utilizado no teste.

KAUR e KAPOOR (2002) enfatizaram que é importante medir a atividade antioxidante utilizando-se vários tipos sistemas (anti-radicais livres e de inibição da oxidação lipídica) e levar em consideração tanto o conteúdo de fenólicos quanto à atividade antioxidante durante a avaliação do potencial antioxidante de extratos de plantas. O sistema consistindo de β -caroteno e ácido linoléico e o teste do DPPH podem ser utilizados para examinar uma ampla gama de alimentos quanto à capacidade antioxidante. No entanto, para estabelecer os benefícios à saúde, proporcionados pelos vegetais, são necessárias informações adicionais sobre a ingestão dietética e o aumento da biodisponibilidade após várias operações de processamento.

De acordo com SILVA et al. (1999), a ausência de correlação entre os diferentes métodos deve-se, por um lado, aos indicadores usados na avaliação da atividade antioxidante, os quais não refletem o mesmo estado de evolução do processo oxidativo e, por outro, às condições experimentais em que se efetuam as avaliações (temperatura, presença de catalisadores metálicos, pressão de oxigênio, exposição à luz e agitação).

Devido à possível presença de resíduos de pesticidas nos extratos vegetais utilizados como fontes potenciais de antioxidantes, LARROSA et al. (2002b) sugerem que um exame preliminar dos vegetais e supõem que aqueles provenientes do cultivo orgânico sejam uma boa fonte de matéria-prima.

5.4 Resíduos de pesticidas

A contaminação de alimentos com agrotóxicos é reconhecida como um problema de saúde pública, portanto, o monitoramento de resíduos em alimentos torna-se imprescindível para garantir a segurança alimentar e identificar potenciais fontes de contaminação (OVIEDO, 2002).

A partir de uma análise multirresíduos de pesticidas, específica para a cultura do tomate, verificou-se a possível presença de 48 ingredientes ativos nas preparações e produtos de tomates provenientes do cultivo orgânico e convencional.

Não foi detectado resíduo de pesticidas em nenhuma das amostras de tomate orgânico. No entanto, para aquelas provenientes do cultivo convencional foram encontrados resíduos nas preparações (inteiro, sem pele e sem semente), conforme demonstrado na Tabela 19.

Tabela 19. Teor de resíduos de pesticidas em tomates produzidos convencionalmente*.

Princípio Ativo	LMR	IN 1	IN 2	SP 1	SP 2	SS 1	SS 2
Permetrina	0,3	-	-	1,3	-	-	-
Tebuconazol	0,1	-	-	-	0,4	-	-
Ditiocarbamatos	2,0	0,08	0,06	-	0,1	0,08	0,1

*Resultados e limite máximo de resíduo (LMR) expressos em mg/kg de amostra em base úmida.

IN 1: inteiro lote 1; IN 2: inteiro lote 2.

SP 1: sem pele lote 1; SP 2: sem pele lote 2.

SS 1: sem semente lote 1; SS 2 sem semente lote 2.

Os piretróides têm sido considerados uma das classes de inseticidas com maior potencial na agricultura por sua curta persistência no meio ambiente, expressiva atividade contra insetos e baixa toxicidade em mamíferos (OVIEDO, 2002). Entre os compostos sintéticos comercialmente disponíveis pertencentes a esta classe, destaca-se a permetrina, pela sua utilização na agricultura. Seu uso é autorizado para a cultura do tomate e a forma de aplicação é a foliar (ANVISA, s.d.).

De acordo com os resultados mostrados na Tabela 19, pode-se observar que resíduo de permetrina foi encontrado apenas na preparação tomate convencional sem pele (lote 1). O teor encontrado (1,3 mg/kg) ficou acima do LMR estabelecido para a cultura (0,3 mg/kg).

OVIEDO (2002) avaliou hortaliças disponíveis na CEASA-Campinas durante o período entre outubro de 2000 a agosto de 2001, quanto aos resíduos de inseticidas piretróides, e constatou tanto a presença de resíduos em níveis superiores ao limite máximo permitido, como a aplicação de inseticida não autorizado para a cultura

avaliada. Segundo o autor, estes resultados indicam que as boas práticas agrícolas não estão sendo cumpridas por alguns produtores, evidenciando assim, a necessidade de implantação de um programa de monitoramento de resíduos de piretróides em alimentos, particularmente em alface e tomate, que podem representar maior risco para a população brasileira, por serem rotineiramente consumidas.

O tebuconazol ou tebuconazole é um ingrediente ativo pertencente ao grupo químico triazol e à classe fungicida. A modalidade de emprego é a aplicação foliar e é permitido para a cultura do tomate (ANVISA, s.d.). O resíduo deste pesticida foi detectado no tomate convencional sem pele (lote 2) em teor acima do LMR estabelecido para a cultura (Tabela 19).

O grupo químico dos ditiocarbamatos inclui oito fungicidas (BOURN e PRESCOTT, 2002). O ingrediente ativo ou nome comum do produto é mancozebe ou mancozeb, pertencente à classe dos fungicidas e acaricidas. Seu uso agrícola é permitido para a cultura do tomate e a modalidade de emprego é a aplicação foliar (ANVISA, s.d.). Note-se que o teor de resíduos encontrado para o tomate inteiro (lotes 1 e 2), sem pele (lote 2) e sem semente (lotes 1 e 2) estão abaixo do LMR estabelecido para a cultura (2,0 mg/kg).

Pesquisa realizada por LUISA et al. (1997) sobre o uso de pesticidas em Cuba e os níveis de resíduos em diferentes culturas, entre os anos de 1987 e 1995, revelou que havia concentrações de ditiocarbamatos em amostras de tomate, cebola e batata acima dos limites máximos registrados pela legislação cubana. Os autores ressaltaram que este resultado é preocupante, pois os ditiocarbamatos são utilizados em um grupo considerável de culturas.

Estudos experimentais relativos à transformação do ditiocarbamatos nas culturas e no solo indicaram que estes se metabolizam em etilenotiouréia (ETU) ou permanecem inalterados, e que os efeitos da degradação são favorecidos pelas altas temperaturas e pela ação dos raios solares, que aumentam a velocidade de metabolização do produto. Ensaios realizados com animais, envolvendo expressivas doses de ETU, demonstraram que este produz transtornos na tireóide, defeitos congênitos e câncer (LUISA et al., 1997).

Considerando-se que todas as amostras provenientes do cultivo convencional foram submetidas à análise multirresíduos de pesticidas e que foram identificados

resíduos apenas nas preparações (inteiro, sem pele e sem semente), enquanto nenhum tipo de resíduo foi detectado no molho e no purê de tomate, pode-se inferir que o tratamento térmico teve um efeito positivo, promovendo a degradação destas substâncias. A forma de cultivo foi um fator determinante em relação à presença de resíduos de pesticidas e, como esperado, de acordo com as diretrizes para produção orgânica de alimentos (BRASIL, 2003), o tomate orgânico preparado de diversas formas não apresentou tais resíduos.

Neste caso, os consumidores estão corretos quando definem os alimentos orgânicos como aqueles que não contêm agrotóxicos (CERVEIRA e CASTRO, 1999; ASSIS et al., 1995).

6 CONCLUSÕES

Os resultados obtidos na presente pesquisa permitem concluir, especificamente com relação ao modo de cultivo das amostras estudadas, que:

- ❖ O molho e o purê orgânicos apresentaram valor médio de atividade de água menor que seus similares convencionais.
- ❖ O purê orgânico revelou maior conteúdo de sólidos solúveis, quando comparado ao convencional.
- ❖ O purê orgânico apresentou percentual médio de umidade menor que o purê convencional.
- ❖ O tomate orgânico, na forma de molho e purê, apresentou pH médio maior que o tomate convencional.
- ❖ O tomate orgânico nas formas inteiro, sem pele e sem semente, apresentou ângulo de cor maior que o tomate convencional. Portanto, os tomates convencionais estavam mais vermelhos.
- ❖ O tomate orgânico inteiro e o molho apresentaram teores médios de ácido ascórbico maiores que seus similares convencionais.
- ❖ O tomate orgânico apresentou teor médio de fenólicos maior que o tomate convencional, para todos os produtos e preparações.
- ❖ Não foi possível detectar diferença entre os tomates orgânicos e convencionais quanto ao teor de licopeno, para todas as preparações e produtos avaliados.

- ❖ Para o extrato etéreo pelo método DPPH, verificou-se que apenas para o tomate sem semente, o orgânico apresentou atividade antioxidante maior que o convencional.
- ❖ Para o extrato alcoólico pelo método DPPH, apenas para o tomate sem semente não houve diferenças entre orgânico e convencional, para as demais preparações e produtos o tomate orgânico apresentou percentual maior que o convencional.
- ❖ No caso do extrato aquoso, apenas os resultados obtidos para o tomate inteiro e o molho orgânico e convencional não apresentaram diferenças, para os demais modos de preparo (sem pele, sem semente e purê) o tomate orgânico apresentou percentual médio de atividade antioxidante maior que o tomate convencional.
- ❖ Para o extrato etéreo pelo sistema β -caroteno/ácido linoléico, quando se comparou cultivo orgânico e convencional, observou-se que a atividade antioxidante do molho convencional foi maior que do molho orgânico. No entanto, para os tomates sem pele e sem semente, o orgânico apresentou valores médios significativamente maiores que o tomate convencional.
- ❖ Para o extrato alcoólico pelo sistema β -caroteno/ácido linoléico, não foram encontradas diferenças, quando se compararam os dados obtidos tendo por base as preparações e os produtos provenientes do cultivo orgânico e convencional. No caso do extrato aquoso, o tomate orgânico apresentou maior média de atividade antioxidante para todos os modos de preparo, exceto para o molho.
- ❖ A forma de cultivo foi um fator determinante em relação à presença de resíduos de pesticidas, uma vez que o tomate orgânico preparado de diversas formas não apresentou tais resíduos.

- ❖ No caso do cultivo convencional, foram encontrados resíduos de pesticidas apenas nas preparações (inteiro, sem pele e sem semente), enquanto nenhum tipo de resíduo foi detectado no molho e no purê de tomate.

7 CONSIDERAÇÕES FINAIS

Os níveis de antioxidantes, em contraste com outras defesas antioxidantes do organismo, são determinados principalmente por seu suprimento dietético. Frutas e hortaliças são as principais fontes de compostos antioxidantes, tornando estes alimentos essenciais para a saúde humana. Considerando-se que tomates são os principais componentes das refeições diárias de expressiva parcela da população de muitos países, torna-se cada vez mais importante investir na avaliação do seu valor nutricional no tocante ao conteúdo de antioxidantes. Diversos estudos apontam que fatores ambientais, genéticos e agrônômicos podem causar mudanças na composição química dos produtos de origem vegetal, o que faz com que avaliações analíticas periódicas sejam importantes.

Tomates merecem atenção pela sua disponibilidade durante o ano todo e pelos seus preços acessíveis, o que faz com que o consumo médio diário seja muito mais expressivo do que a de outras frutas e hortaliças. Além disso, produtos à base de tomate suprem a dieta humana de carotenóides desprovidos de atividade pró-vitamínica, como o licopeno, que tem sido apontado como um eficiente antioxidante.

Esta pesquisa confirmou que tomates na forma em que geralmente são manipulados domesticamente para o consumo, ou seja, em preparações (inteiro, sem pele e sem semente) e na forma de produtos (molho e purê), contêm substancial quantidade de ácido ascórbico, licopeno e compostos fenólicos.

Os diferentes métodos adotados para avaliação da atividade antioxidante (DPPH e β -caroteno/ácido linoléico) demonstraram que os extratos etéreo, alcoólico e aquoso contêm compostos antioxidantes, os quais agem efetivamente como sequestradores de radicais livres e inibidores da oxidação lipídica, aumentando expressivamente a atividade antioxidante *in vitro*. Os resultados obtidos por meio do emprego de diferentes métodos sugerem que múltiplos mecanismos são responsáveis pela atividade antioxidante dos extratos. O propósito destes testes foi avaliar o potencial antioxidante das amostras de tomate. Desse modo, extrapolações para sistemas *in vivo* irão requerer pesquisas mais detalhadas, que vão além do âmbito do presente trabalho.

Nesta pesquisa, ficou evidente uma relação entre o aumento da concentração dos extratos e a conseqüente elevação da atividade antioxidante, exceto para o extrato etéreo no método β -caroteno / ácido linoléico.

No caso do DPPH, o extrato etéreo apresentou melhor desempenho, provavelmente, devido à ação do licopeno, que é considerado um excelente seqüestrador de radicais livres. Para o sistema β -caroteno / ácido linoléico, observou-se melhor desempenho dos extratos alcoólico e aquoso, possivelmente, devido à ação de compostos fenólicos (extrato alcoólico e aquoso) e do ácido ascórbico (extrato aquoso), que atuam eficientemente como inibidores da oxidação lipídica.

Embora os extratos das amostras tenham revelado desempenhos distintos, quando se adotou dois métodos como indicadores da atividade antioxidante, este tipo de aferição permite maior precisão na indicação do potencial antioxidante do alimento. Além dos diversos compostos antioxidantes presentes nos extratos testados, a atividade antioxidante depende, ainda, do efeito sinérgico entre estes compostos. Interações entre antioxidantes podem apresentar efeitos que não seriam observados quando os elementos são testados isoladamente.

A ampla gama de fatores que podem afetar a composição dos alimentos, tais como: genética, condições climáticas e características de colheita e pós-colheita, faz com que as pesquisas que visem comparar o valor nutritivo de alimentos provenientes do cultivo orgânico e convencional sejam difíceis de serem implementadas e igualmente desafiadora a interpretação dos seus resultados. No entanto, devido ao crescente interesse pelo tema e ao aumento da produção e do consumo de alimentos orgânicos, outras pesquisas devem ser conduzidas visando preencher a lacuna de informações que ainda persistem.

8 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Abushita AA, Hebshi EA, Daood HG, Biacs PA. Determination of antioxidant vitamins in tomatoes. **Food Chem** 1997; 60(2): 207-212.
2. Abushita AA, Daood HG, Biacs PA. Change in carotenoids and antioxidant vitamins in tomato as a function of varietal and technological factors. **J Agric Food Chem** 2000; 48(6): 2075-2081.
3. AGENCIA NACIONAL DE VIGILÂNCIA SANITÁRIA. **Monografias de Produtos Agrotóxicos** s.d. Available from <URL: <http://www.anvisa.gov.br/toxicologia/monografias/monografias.pdf>> [2004 Nov 16]
4. Almeida C. **Determinação da firmeza e cor do tomate (*Lycopersicum esculentum* Mill), visando o estabelecimento de correlações entre medidas sensoriais e físicas ao longo do tempo de maturação.** Campinas; 1995. [Dissertação de Mestrado - Faculdade de Engenharia Agrícola da Universidade de Campinas].
5. Andersson A, Palsheden H. Multi-residue method for analysis of pesticides in fruit and vegetables using ethyl acetate extraction, GPC clean-up and GC determination. **Pestic Anal Methods Sweeden**. Part 1. Rapport 17/98. National Food Administration. Uppsala. p.9-41, 1998.
6. Anderson D, Phillips JB. Comparative *in vitro* and *in vivo* effects of antioxidants. **Food Chem Toxicol** 1999; 37: 1015-1025.
7. Andreuccetti C, Ferreira MD, Gutierrez, ASD, Tavares M. Classificação e padronização dos tomates cv. Carmem e Débora dentro da CEAGESP - SP. **Eng Agric** 2004; 24(3): 796-798.

8. Anese M, Falcone P, Fogliano V, Nicoli MC, Massini R. Effect of equivalent thermal treatments on the color and the antioxidant activity of tomato purees. **J Food Sci** 2002; 67(9): 3442-3446.
9. Anguelova T, Warthesen J. Lycopene stability in tomato powders. **J Food Sci** 2000; 65(1): 67-70.
10. ANVISA. Portaria nº3, de 16.1.1992: ratifica os termos das “diretrizes e orientações referentes à autorização de registros, renovação de registro e extensão de uso de agrotóxicos e afins - nº1, de 09.12.1991”, publicadas no D.O.U. em 13.12.1991. **Diário Oficial da União**, Brasil, 4 fev. 1992.
11. Araújo ACP, Nogueira DP, Augusto LGS. Impacto dos praguicidas na saúde: estudo da cultura de tomate. **Revista de Saúde Pública** 2000; 34(3): 309-313.
12. Archanjo LR, Brito KFW, Sauerbeck S. Os alimentos orgânicos em Curitiba: consumo e significado. **Cadernos de Debate** 2001; 8: 1-6.
13. Arias R, Lee TC, Logendra L, Janes H. Correlation of lycopene measured by HPLC with the L*, a*, b* color readings of a hydroponic tomato and the relationship of maturity with color and lycopene content. **J Agric Food Chem** 2000; 48: 1697-1702.
14. Aruoma OI, Halliwell B, Williamson G. *In vitro* methods for characterizing potencial prooxidant and antioxidant actions of nonnutritive substances in plant foods. In: Aruoma OI, Cuppett SL, editors. **Antioxidant Methodology In vivo and in vitro Concepts**. Illinois: AOCS PRESS; 1997. p. 173-204.
15. Assis RL, Arezzo DC, De-Polli H. Consumo de produtos da agricultura orgânica no estado do Rio de Janeiro. **Rev Administração** 1995; 30(1): 84-89.

16. AOAC - Association of Official Analytical Chemists. **Official methods of analysis**. 16.ed. Arlington: AOAC; 1995.
17. Awad M. **Fisiologia pós-colheita de frutos**. São Paulo: Nobel; 1993.
18. Bianchi MLP, Antunes LMG. Radicais livres e os principais antioxidantes da dieta. **Rev Nutr Campinas** 1999; 12(2): 123-130.
19. Böhm F, Edge R, Burke M, Truscott TG. Dietary uptake of lycopene protects human cells from singlet oxygen and nitrogen dioxide – ROS components from cigarette smoke. **J Photochem Photobiol B: Biol** 2001; 64: 176-178.
20. Borguini RG, Mattos FL. Análise do Consumo de Alimentos Orgânicos no Brasil. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE ECONOMIA E SOCIOLOGIA RURAL, 40, Passo Fundo, 2002. **Anais**. Brasília: SOBER, 2002. p.38.
21. Borguini RG. **Tomate (*Lycopersicum esculentum*) orgânico: conteúdo nutricional e a opinião do consumidor**. Piracicaba; 2002. [Dissertação de Mestrado – Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz” da Universidade de São Paulo].
22. Bourn D, Prescott J. A Comparison of the nutritional value, sensory qualities, and food safety of organically and conventionally produced foods. **Crit Rev Food Sci Nutr** 2002; 42(1): 1-34.
23. Bramley PM. Is lycopene beneficial to human health? **Phytochem** 2000; 54: 233-236.
24. Brand-Williams W, Cuvelier ME, Berset C. Use of a free radical method to evaluate antioxidant activity. **Lebensm-Wiss. U-Technol** 1995; 28: 25-30.

25. Brasil. Ministério da Agricultura, Pecuária e do Abastecimento. Lei Federal n. 10.831 de dezembro de 2003. Dispõe sobre normas para a produção de produtos orgânicos vegetais e animais. **Diário Oficial da República Federativa do Brasil**, Brasília, 23 dez 2003. Seção 1, p.11.
26. Bussab WO, Morettin PA. **Estatística básica**. 5^a ed. São Paulo: Editora Saraiva; 2002.
27. Caldas ED, Souza LCK. Avaliação de risco crônico da ingestão de resíduos de pesticidas na dieta brasileira. **Rev Saúde Pública** 2000; 34(5): 529-537.
28. Cano A, Acosta M, Arnao MB. Hydrophilic and lipophilic antioxidant activity changes during on-vine ripening of tomatoes (*Lycopersicon esculentum* Mill.). **Postharvest Biol Technol** 2003; 28: 59-65.
29. Caris-Veyrat C, Amiot MJ, Tyssandier V, Grasselly D, Buret M, Mikoljozak M, Guillard JC, Bouteloup-Demange C, Borel P. Influence of organic versus conventional agricultural practice on the antioxidant microconstituent content of tomatoes and derived purees; consequences on antioxidant plasma status in humans. **J Agric Food Chem** 2004; 52: 6503-6509.
30. Cerveira R, Castro MC. Consumidores de produtos orgânicos da cidade de São Paulo: características de um padrão de consumo. **Informações Econômicas** 1999; 29(12): 7-19.
31. Cheung LM, Cheung PCK, Ooi VEC. Antioxidant activity and total phenolics of edible mushroom extracts. **Food Chem** 2003; 80(2): 249-255.
32. Chitarra MIF, Chitarra AB. **Pós-colheita de frutos e hortaliças**: fisiologia e manuseio. Lavras: Fundação de Apoio ao Ensino, Pesquisa e Extensão; 1990.
33. Chitarra MIF. Colheita e pós-colheita de frutos. **Informe Agropecuário** 1994; 17(179): 8-18.

34. Clifford MN. Chlorogenic acids and other cinnamates – nature, occurrence and dietary burden. **J Sci Food Agric** 1999; 79: 362-372.
35. Clinton SK, Emenhiser C, Schwartz SJ, Bostwick DG, Williams AW, Moore BJ, Erdman JW. *Cis-trans* lycopene isomers, carotenoids, and retinol in the human prostate. **Cancer Epidemiol Biomarkers Prev** 1996; 5: 823-833.
36. Clinton SK. Lycopene: chemistry, biology, and implications for human health and disease. **Nutr Rev** 1998; 56: 35-51.
37. Codex Alimentarius. **Norma del Codex para los concentrados de tomate elaborados. Codex Stan 57 1981.** [Standard list on line] Available from <URL: http://www.codexalimentarius.net/standard_list.asp#top> [2003 jul.17]
38. CEAGESP - Companhia de Entrepostos e Armazéns Gerais do Estado de São Paulo. **Classificação de tomate.** São Paulo: CEAGESP, s.d. 3p.
39. Davey MW, Montagu MV, Inzé D, Sanmartin M, Kanellis A, Smirnoff N, Benzie IJJ, Strain JJ, Favell D, Fletcher J. Plant L-ascorbic acid: chemistry, function, metabolism, bioavailability and effects of processing. **J Sci Food Agric** 2000; 80: 825-860.
40. Davies JN, Hobson GE. The constituents of tomato fruit – the influence of environment, nutrition and genotype. **Crit Rev Food Sci Nutr** 1981; 15 (1): 205-280.
41. Davis AR, Fish WW, PerKins-Veazie P. A rapid spectrophotometric method for analyzing lycopene content in tomato and tomato products. **Postharvest Biol Technol** 2003; 28: 425-430.

42. Dewanto V, Wu X, Adom KK, Liu HR. Thermal processing enhances the nutritional value of tomatoes by increasing total antioxidant activity. **J Agric Food Chem** 2002; 50: 3010-3014.
43. Djuric Z, Powell LC. Antioxidant capacity of lycopene-containing foods. **Int J Food Sci Nutr** 2001; 52: 143-149.
44. Dumas Y, Dadomo M, Lucca G, Grolier P, Di Luca G. Effects of environmental factors and agricultural techniques on antioxidant content of tomatoes. **J Sci Food Agric** 2003; 83: 369-382.
45. Eskin NAM. **Quality and preservation of vegetables**. Florida: CRC Press; 1989.
46. FAO/ORGANIZAÇÃO MUNDIAL DA SAÚDE. 1999. **El codex alimentarius**: directrices para la producción, elaboración, etiquetado y comercialización de alimentos producidos orgánicamente Available at < <http://www.fao.org>. > (05 Set. 2001)
47. Gahler S, Otto K, Böhm V. Alterations of vitamin C, total phenolics, and antioxidant capacity as affected by processing tomatoes to different products. **J Agric Food Chem** 2003; 51: 7962-7968.
48. García IG, Mestre PF, Barrios TV, Rivero LL, Cristiá RP. Cantidad y calidad antioxidante de alimentos de origen vegetal consumidos en Cuba. **Alimentaria** 2000 out: 103-109.
49. Gartner C, Stahl W, Sies H. Lycopene is more bioavailable from tomato paste than from fresh tomatoes. **Am J Clin Nutr** 1997; 66: 116-122.
50. George B, Kaur C, Khurdiya DS, Kapoor HC. Antioxidants in tomato (*Lycopersium esculentum*) as a function of genotype. **Food Chem** 2004; 84: 45-51.

51. Genovese MI, Santos RJ, Hassimoto NMA, Lajolo FM. Determinação do conteúdo de fenólicos totais em frutas. **Rev Cienc Farmacêuticas** 2003; 39: 167-169.
52. Giovanelli G, Zannoni B, Lavelli V, Nani R. Water sorption, drying and antioxidant properties of dried tomato products. **J Food Eng** 2002; 52: 135-141.
53. Giovannucci E, Ascherio A, Rimm EB, Stampfer ML, Colditz GA, Willett WC. Intake of carotenoids and retinol in relation to risk of prostate cancer. **J Natl Cancer Inst** 1995; 87: 1767-1776.
54. Giovannucci E. Tomatoes, Tomato-Based Products, Lycopene, and Cancer: Review of the Epidemiologic Literature. **J Natl Cancer Inst** 1999; 91(4): 318-331.
55. Gross J. **Pigments in fruits** (Food science and technology). London: Academic Press; 1987.
56. Hall III CA, Cuppett SL. Structure-Activities of Natural Antioxidants. In: Aruoma OI, Cuppett SL, editors. **Antioxidant Methodology *In vivo* and *in vitro* Concepts**. Illinois: AOCS PRESS; 1997. p. 141-172.
57. Halliwell B, Aruoma OI. Free radicals and antioxidants: the need for *in vivo* markers of oxidative stress. In: Aruoma OI, Cuppett SL, editors. **Antioxidant Methodology *In vivo* and *in vitro* Concepts**. Illinois: AOCS PRESS; 1997. p. 1-22.
58. Hollman PCH, Katan MB. Dietary flavonoids: intake, health effects and bioavailability. **Food Chem Toxicol** 1999; 37: 937-942.

59. Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística. **Pesquisa de Orçamentos Familiares 2002-2003**: aquisição alimentar domiciliar per capita. Rio de Janeiro, 2004. Available at <
http://www.ibge.gov.br/home/estatistica/populacao/condicaodevida/pof/2002_aquisicao/pof> (07 ago 2005)
60. Ishida BK, Chapman MH. A comparison of carotenoid content and total antioxidant activity in catsup from several commercial sources in the United States. **J Agri Food Chem** 2004; 52: 8017-8020.
61. Kaur C, Kapoor HC. Antioxidants in fruits and vegetables – the millennium's health. **Int J Food Sci Technol** 2001, 36: 703-725.
62. Kaur C, Kapoor HC. Anti-oxidant activity and total phenolic content of some Asian vegetables. **Int J Food Sci Technol** 2002; 37: 153-161.
63. Kimura M, Rodriguez-Amaya D. Carotenoids of tomato and tomato paste: verification of the occurrence of γ -carotene. **Rev Inst Adolfo Lutz** 2003; 62(1): 21-26.
64. Kotaka ET, Zambrone FA. **Contribuições para a construção de diretrizes de avaliação do risco toxicológico de agrotóxicos**. Campinas: ILSI Brasil; 2001.
65. Larrosa M, Espín JC, Tomás-Barberán FA. Antioxidant capacity of tomato juice functionalised with enzymatically synthesized hydroxytyrosol. **J Sci Food Agric** 2002; 83: 658-666a.
66. Larrosa M, Llorach R, Espín JC, Tomás-Barberán A. Increase of antioxidant activity of tomato juice upon fictionalization with vegetable byproduct extracts. **Lebensm Wiss u Technol** 2002; 35: 532-542b.

67. Lavelli V, Peri C, Rizzolo A. Antioxidant activity of tomato products as studied by model reactions using xanthine oxidase, myeloperoxidase, and koper-induced lipid peroxidation. **J Agric Food Chem** 2000; 48: 1442-1448.
68. Lee A, Thurnham DI, Chopra M. Consumption of tomato products with olive oil but not sunflower oil increases the antioxidant activity of plasma. **Free Radic Biol Med** 2000; 29(10): 1051-1055.
69. Lee J, Koo N, Min DB. Rective oxeyen species, aging and antioxidative nutraceuticals. **Compr Rev Food Sci Food Saf** 2004; 3: 21-33.
70. Leong LP, Shui G. An investigation of antioxidant capacity of fruits in Singapore markets. **Food Chem** 2002; 76: 69-75.
71. Lima VLAG, Mélo EA, Maciel MIS, Prazeres FG, Musser RS, Lima DES. Total phenolic and carotenoid contents in acerola genotypes harvested at three ripening stages. **Food Chem** 2005; 90(4): 565-568.
72. Lourenço RC. **Discussão sobre o risco das interações de agrotóxicos na dieta brasileira**. São Paulo; 2003. [Dissertação de Mestrado – Faculdade de Saúde Pública da USP].
73. Luengo RFA, Parmagnani RM, Parente MR, Lima MRBF. **Tabela de composição nutricional das hortaliças**. Brasília: Embrapa Hortaliças; 2000. (Documentos, 26)
74. Luengo RFA, Calbo AG. **Armazenamento de Hortaliças**. Brasília: Embrapa Hortaliças; 2001.
75. Luisa OVB, Verdes JAA, Diaz TC, Valiente MLG. Uso de plaguicidas en Cuba, su repercusión en el ambiente y la salud. **Rev Cubana Aliment Nutr** 1997; 11(2): 111-116.

76. Manela-Azulay M, Filgueira AL, Mandarin-de-Lacerda CA, Cuzzi T, Perez MA. Vitamina C. **An Bras Dermatol** 2003; 78(3): 265-274.
77. Mann J. **Secondary metabolism**. 2^a ed. Oxford: Oxford University Press; 1987.
78. Martínez-Flórez S, González-Gallego J, Culebras JM, Tuñón MJ. Los flavonoides: propiedades y acciones antioxidantes. **Nutr Hosp** 2002; 17(6): 271-278.
79. Martinez-Valverde I, Periago MJ, Provan G. Phenolic compounds, lycopene and antioxidant activity in commercial varieties of tomato (*Lycopersicum esculentum*). **J Sci Food Agric** 2002; 82(3): 323-330.
80. McGarvey BD, Chiba M, Broadbent AB. Simplified cleanup and capillary gas chromatographic analysis of residues of aldicarb and its oxidation products in *Chrysanthemum* leaves. **J Assoc Anal Chem** 1986; 69(5): 852-855.
81. McGuire RG. Reporting of objective color measurements. **Hort Sci** 1992; 17(12): 1254-1255.
82. Melo MSOM, Mancini-Filho J. Antioxidantes naturais do fruto do dendezeiro (*Elaeis guineensis*, Jacq). **Rev Farm Bioquim Univ São Paulo** 1989, 25(2): 147-157.
83. Melo EA, Guerra NB. Ação antioxidante de compostos fenólicos naturalmente presentes em alimentos. **Bol SBCTA** 2002; 36(1): 11-1.
84. Mensor LL, Menezes FS, Leitão GG, Reis AS, Santos TC, Coube CS, Leitão SG. Screening of Brazilian plant extracts for antioxidant activity by de use of DPPH free radical method. **Phytother Res** 2001; 15: 127-130.

85. Neter J, Kutner MH, Nachtsheim CJ, Wasserman W. **Applied linear statistical models: regression, analysis of variance and experimental design**. 4^a ed. Homewood: Richard D. Irwing: 1996.
86. Nguyen ML, Schuwartz SJ. Lycopene stability during food processing. **Proc Soc Exp Biol Med** 1998; 218: 101-105.
87. Nicoli MC, Anese M, Parpinel MT, Franceschi S, Lericri CR. Loss and/or formation of antioxidants during food processing and storage. **Cancer Lett** 1997; 114: 71-74.
88. Nicoli MC, Anese M, Parpinel M. Influence of processing on the antioxidant properties of fruit and vegetables. **Trends Food Sci Technol** 1999; 10: 94-100.
89. Niizu PY, Rodriguez-Amaya D.B. A melancia como fonte de licopeno. **Rev Inst Adolfo Lutz** 2003; 62(3): 195-199.
90. Niki E. Antioxidant activity: are we measuring it correctly? **Nutr** 2002; 18(6): 524-525.
91. Ohlin B, Jansson C. Determination of benzimidazoles and some other pesticides in agricultural crops with HPLC. **Pestic Anal Methods Sweeden**. Part 1. Rapport 17/98. National Food Administration. Uppsala. p.63-74, 1998.
92. Ortiz HN, Giacomini MI, Alfonso C, Bosch V. Efecto antioxidante del tomate (*Lycopersicum esculentum* Mill) en la lipoproteína de alta densidad (HDL) y en los microsomas hepático de la rata. **Arch Venez Farmacol Ter** 2003; 22(1): 1-12.

93. Oviedo MTP. **Resíduos de agrotóxicos em hortaliças comercializadas em Campinas – São Paulo**. Campinas; 2002. [Tese de Doutorado – Faculdade de Engenharia de Alimentos da Universidade Estadual de Campinas].
94. Pellegrini N, Riso P, Porrini M. Tomato consumption does not affect the total antioxidant capacity of plasma. **Nutr** 2000; 16: 268-271.
95. Penteado SR. **Introdução à agricultura orgânica**. Campinas: Grafimagem; 2000.
96. Pregnotatto W, Pregnotatto NP. **Normas analíticas do Instituto Adolfo Lutz**. São Paulo: Instituto Adolfo Lutz; 1985.
97. Premuzic Z, Bargiela M, Garcia A, Rondina A, Lorio A. Calcium, iron, potassium, phosphorus, and vitamin C content of organic and hidroponic tomatoes. **Hortscience** 1998; 33: 255-257.
98. Rao VA, Waseem Z, Agarwal S. Lycopene content of tomatoes and tomato products and their contribution to dietary lycopene. **Food Res Int** 1998; 31(10): 737-741.
99. Raffo A, Leonardi C, Fogliano V, Ambrosino P, Salucci M, Gennaro L, Bugianesi RO, Giufreda F, Quaglia G. Nutritional value of cherry tomatoes (*Lycopersicon esculentum* Cv. Naomi F1) harvested at different ripening stages. **J Agric Food Chem** 2002; 50: 6550-6556.
100. Ren H, Endo H, Hayashi T. Antioxidative and antimutagenic activities and polyphenol content of pesticide-free and organically cultivated green vegetables using water-soluble chitosan as a soil modifier and leaf surface spray. **J Sci Food Agric** 2001; 81: 1426-1432.

101. Rice-Evans CA, Miller NJ, Paganga G. Antioxidant properties of phenolic compounds. **Trends Plant Sci** 1997; 2(4):152-159.
102. Rivero RM, Ruiz JM, García PC, López-Lefebvre LR, Sánchez E, Romero L. Resistance to cold and heat stress: accumulation of phenolic compounds in tomato and watermelon plants. **Plant Sci** 2001; 160: 315-321.
103. Roncada MJ, Mazzili RN. Fontes de vitaminas na dieta de populações do estado de São Paulo, Brasil. **Alimentos e Nutrição** 1989; 1: 71-86.
104. Sadler G, Davis J, Dezman D. Rapid extraction of lycopene and β -carotene from reconstituted tomato paste and pink grapefruits homogenates. **J Food Sci** 1990; 55: 1460-1461.
105. Sahlin E, Savage GP, Lister CE. Investigation of the antioxidant properties of tomatoes after processing. **J Food Composit Anal** 2004; 17(5): 635-647.
106. Salles C, Nicklaus S, Septier C. Determination and gustatory properties of taste-active compounds in tomato juice. **Food Chem** 2003; 81(3): 395-402.
107. Schuphan W. Nutritive value of crops as influenced by organic and inorganic fertilizer treatment. **Qualitas Plantarum: plant foods for human nutrition** 1974; 23(4): 333-358.
108. Shami NJIE, Moreira EAM. Licopeno como agente antioxidante. **Rev Nutr Campinas** 2004; 17(2): 227-236.
109. Shi J, Le Maguer M, Kakuda Y, Liptay A, Niekamp F. Lycopene degradation and isomerization in tomato dehydration. **Food Res Int** 1999; 32: 15-21.

110. Shi J, Le Maguer M. Lycopene in tomatoes: chemical and physical properties affected by food processing. **Crit Rev Food Sci Nutr** 2000; 40(1): 1-42.
111. Silva FAV, Borges MFM, Ferreira MA. Métodos para avaliação do grau de oxidação lipídica e da capacidade antioxidante. **Quim Nova** 1999; 2(1): 94-103.
112. Singh N, Rajini PS. Free radical scavenging activity of an aqueous extract of potato peel. **Food Chem** 2004; 85: 611-616.
113. Smith BL. Organic foods vs. supermarket foods: element levels. **J Appl Nutr** 1993; 45(1): 35-39.
114. Soares SE. Ácidos fenólicos como antioxidantes. **Rev Nutr Campinas** 2002; 15(1): 71-81.
115. Sotero DEG. **Caracterização química e avaliação da atividade antioxidante dos frutos da Amazônia: chopé (*Gustavia augusta* L.), sacha mangua (*Grias meuberthii* Macbr.) e macambo (*Theobroma bicolor*).** São Paulo; 2002. [Tese de Doutorado – Faculdade de Ciências Farmacêuticas da Universidade de São Paulo].
116. Souza MCM. Aspectos institucionais do sistema agroindustrial de produtos orgânicos. **Informações Econômicas** 2003; 33(3): 7-16.
117. Souza APO, Alcântara RLC. Alimentos orgânicos: estratégias para o desenvolvimento do mercado. In: Neves MF, Castro LT., organizadores. **Marketing e estratégia em agronegócios e alimentos.** São Paulo: Atlas; 2003. p. 332 – 347.

118. Stahl W, Heinrich U, Wiseman S, Eichler O, Sies H, Tronnier H. Dietary tomato paste protects against ultraviolet light-induced erythema in humans. **J Nutr** 2001; 131: 1449-1451.
119. Stahl W, Sies H. Uptake of lycopene and its geometrical isomers is greater from heat-processed than from unprocessed tomato juice in humans. **J Nutr** 1992; 122: 2161-2166.
120. Stahl W, Sies H. Lycopene: a biologically important carotenoid for humans? **Arch Biochem Biophys** 1996; 336(1): 1-9.
121. Stahl W, Sies H. Antioxidant activity of carotenoids. **Mol Aspects Med** 2003; 24: 345-351.
122. Stewart AJ, Bozonnet S, Mullen W, Jenkins GI, Lean MEJ, Crozier A. Occurrence of flavonols in tomatoes and tomato-based products. **J Agric Food Chem** 2000; 48: 2663-2669.
123. Takeota GR, Dao L, Flessa S, Gillespie DM, Jewell WT, Huebner B, Bertow D, Ebeler SE. Processing effects on lycopene content and antioxidant activity of tomatoes. **J Agric Food Chem** 2001; 49: 3713-3717.
124. Tavares CA, Rodriguez-Amaya DB. Carotenoid composition of Brazilian tomatoes and tomato products. **Lebensm Wiss Technol** 1994; 27: 219-224.
125. Thompson KA, Marshall MR, Sims CA, Sargent SA, Scott JW. Cultivar, maturity, and heat treatment on lycopene content in tomatoes. **J Food Sci** 2000; 65(5): 791-795.
126. Tonucci LH, Holden JM, Beecher GR, Khachik F, Davis CS, Mulokozi G. Carotenoid content of thermally processed tomato-based food products. **J Agric Food Chem** 1995; 43: 579-586.

127. Toor RK, Savage GP, Heeb A. Influence of different types of fertilizers on the major antioxidant components of tomatoes. **J Food Comp Anal** 2006; 19(1): 20-27.
128. Torjusen H, Lieblein G, Wandel M, Francis CA. Food system orientation and quality perception among consumers and producers of organic food in Hedmark County, Norway. **Food Qual Preferences** 2001; 12: 207-216.
129. USDA/CNPP U.S. Department of Agriculture, Center on Nutrition Policy and Promotion. 2000. Dietary guidelines for Americans. Washington, D.C.: USDA. Available at < <http://www.usda.gov/cnpp/Pubs/DG2000/> > (07 ago 2005)
130. USDA U.S. Agricultural Research Service. 2004. USDA National Nutrient Database for Standard Reference, Release 17. Nutrient Data Laboratory Available at < <http://www.nal.usda.gov/fnic/foodcomp> > (15 mar 2005)
131. Van Boekel, MAJS, Jongen, WMF. Product quality and food processing: how to quantify the healthiness of a product. **Cancer Lett** 1997; 114: 65-69.
132. Van Het Hof KH, West CE, Weststrate JA, Hautvast JGAJ. Dietary factor that affect the bioavailability of carotenoids. **J Nutr** 2000; 130: 503-506.
133. Vickery ML, Vickery B. **Secondary plant metabolism**. London: The Macmillan Press Ltd; 1981.
134. Vinson JA, Hao Y, Su X, Zubik L. Phenol antioxidant quantity and quality in foods: vegetables. **J Agric Food Chem** 1998; 46: 3630-3634.
135. Weisburger JH. Mechanisms of action of antioxidants as exemplified in vegetables, tomatoes and tea. **Food Chem Toxicol** 1999; 37: 943-948.

136. Wilberg VC, Rodriguez-Amaya DB. Quantificação de β -caroteno e licopeno em tomate e em alguns dos seus produtos por cromatografia líquida de alta eficiência. **Cienc Tecnol Alim** 1993; 13(2): 132-141.
137. Yaping Z, Suping Q, Wenli Y, Zheng X, Hong S, Side Y, Dapu W. Antioxidant activity of lycopene extracted from tomato paste towards trichloromethyl peroxy radical CCl_3O_2 . **Food Chem** 2002; 77: 209-212.
138. Zaroni B, Pagliarini E, Foschino R. Study of the stability of dried tomato halves during shelf-life to minimize oxidative damage. **J Sci Food Agric** 2000; 80: 2203-2208.
139. Zieliski H, Kozowska H. Antioxidant activity and total phenolics in selected cereal grains and their different morphological fractions. **J Agric Food Chem** 2000; 48: 2008-2016.

ANEXOS: ANOVA

ANEXO 1

Modelo 1. Modelo geral adotado para as variáveis físico-químicas e para os teores de compostos antioxidantes (ácido ascórbico, compostos fenólicos e licopeno).

$$y_{ijkn} = \mu + \rho_i + \alpha_j + \beta_k + (\alpha\beta)_{jk} + \varepsilon_{ijkn},$$

onde

y_{ijkn} : variável resposta para o i -ésimo lote ($i=1$ ou 2), j -ésimo tipo de cultivo

($j=1$ ou 2), k -ésimo produto ($k=1, \dots, 5$), na n -ésima unidade amostral;

μ : média geral;

ρ_i : efeito aleatório associado à variável resposta devido ao lote i ;

α_j : variação devida ao tipo de tomate j ($j=1$ ou 2);

β_k : variação devida ao produto k ($k=1, \dots, 5$);

$(\alpha\beta)_{jk}$: variação devida ao tipo de tomate j do produto k ;

ε_{ijkn} : erro aleatório associado à observação y_{ijkn} .

$$\varepsilon_{ijkn} \sim \text{Normal}(0, \sigma_e^2), \varepsilon_{ijkn} \sim \text{independentes}$$

$$\rho_i \sim \text{Normal}(0, \sigma_f^2), \rho_i \sim \text{independentes}$$

$$\varepsilon_{ijkn} \text{ independentes de } \rho_i$$

com as restrições:

$$\sum_{j=1}^2 \alpha_j = \sum_{k=1}^5 \beta_k = \sum_{k=1}^5 \sum_{j=1}^2 (\alpha\beta)_{jk} = 0$$

ANEXO 2

Modelo 2. Modelo completo para a variável teor de ácido ascórbico no extrato aquoso.

$$y_{ijkn} = \mu + \rho_i + \alpha_j + \beta_k + (\alpha\beta)_{jk} + \varepsilon_{ijkn},$$

onde

y_{ijkn} : teor de ácido ascórbico para o i -ésimo lote ($i=1$ ou 2), j -ésimo tipo de cultivo ($j=1$ ou 2), k -ésimo produto ($k=1, \dots, 5$) na n -ésima unidade amostral;

μ : média geral do teor de ácido ascórbico;

ρ_i : efeito aleatório associado à variável resposta devido ao lote i ;

α_j : variação teor de ácido ascórbico devida ao tipo de tomate j ($j=1$ ou 2);

β_k : variação do teor de ácido ascórbico devida ao produto k ($k=1, \dots, 5$);

$(\alpha\beta)_{jk}$: variação do teor de ácido ascórbico devida ao tipo de tomate j do produto k ;

ε_{ijkn} : erro aleatório associado à observação y_{ijkn} .

$$\varepsilon_{ijkn} \sim \text{Normal}(0, \sigma_e^2), \varepsilon_{ijkn} \sim \text{independentes}$$

$$\rho_i \sim \text{Normal}(0, \sigma_f^2), \rho_i \sim \text{independentes}$$

$$\varepsilon_{ijkn} \text{ independentes de } \rho_i$$

com as restrições:

$$\sum_{j=1}^2 \alpha_j = \sum_{k=1}^5 \beta_k = \sum_{k=1}^5 \sum_{j=1}^2 (\alpha\beta)_{jk} = 0$$

Modelo 3. Modelo selecionado para a variável teor de ácido ascórbico no extrato aquoso.

$$\log y_{ijkn} = \mu + \alpha_j + \beta_k + (\alpha\beta)_{jk} + \varepsilon_{ijkn},$$

onde

$\log y_{ijkn}$: logarítmo do teor de ácido ascórbico para o i -ésimo lote ($i=1$ ou 2), j -ésimo tipo de cultivo ($j=1$ ou 2), k -ésimo produto ($k=1, \dots, 5$) na n -ésima unidade amostral;

μ : média geral do logarítmo do teor de ácido ascórbico;

ρ_i : efeito aleatório associado à variável resposta devido ao lote i ;

α_j : variação do logarítmo do teor ácido ascórbico devida ao tipo de tomate j ($j=1$ ou 2);

β_k : variação do logarítmo do teor de ácido ascórbico devida ao produto k ($k=1, \dots, 5$);

$(\alpha\beta)_{jk}$: variação do logarítmo do teor de ácido ascórbico devida ao tipo de tomate j do produto k ;

ε_{ijkn} : erro aleatório associado à observação y_{ijkn} .

$$\varepsilon_{ijkn} \sim \text{Normal}(0, \sigma_e^2), \varepsilon_{ijkn} \sim \text{independentes}$$

$$\rho_i \sim \text{Normal}(0, \sigma_f^2), \rho_i \sim \text{independentes}$$

$$\varepsilon_{ijkn} \text{ independentes de } \rho_i$$

com as restrições:

$$\sum_{j=1}^2 \alpha_j = \sum_{k=1}^5 \beta_k = \sum_{k=1}^5 \sum_{j=1}^2 (\alpha\beta)_{jk} = 0.$$

ANEXO 3

Modelo 4. Modelo completo para a variável teor de fenólicos nos extratos alcoólico e aquoso.

$$y_{ijk\ln} = \mu + \rho_i + \alpha_j + \beta_k + \gamma_l + (\alpha\beta)_{jk} + (\alpha\gamma)_{jl} + (\beta\gamma)_{kl} + (\alpha\beta\gamma)_{jkl} + \varepsilon_{ijk\ln},$$

onde:

$y_{ijk\ln}$: teor de fenólicos para o i -ésimo lote ($i=1$ ou 2), j -ésimo tipo de cultivo ($j=1$ ou 2), k -ésimo produto ($k=1, \dots, 5$), submetido ao l -ésimo tipo de extrato ($l=1$ ou 2) na n -ésima unidade amostral;

μ : média geral do teor de fenólicos;

ρ_i : efeito aleatório associado à variável resposta devido ao lote i ;

α_j : variação do teor de fenólicos devida ao tipo de tomate j ($j=1$ ou 2);

β_k : variação do teor de fenólicos devida ao produto k ($k=1, \dots, 5$);

γ_l : variação do teor de fenólicos devida ao extrato l ($l=1$ ou 2);

$(\alpha\beta)_{jk}$: variação do teor de fenólicos devida ao tipo de tomate j do produto k ;

$(\alpha\gamma)_{jl}$: variação teor de fenólicos devida ao tipo de tomate j do extrato l ;

$(\beta\gamma)_{kl}$: variação do teor de fenólicos devida ao produto k do extrato l ;

$(\alpha\beta\gamma)_{jkl}$: variação do teor de fenólicos devida ao tipo de tomate j , produto k do extrato l ;

$\varepsilon_{ijk\ln}$: erro aleatório associado à observação $y_{ijk\ln}$.

$\varepsilon_{ijk\ln} \sim \text{Normal}(0, \sigma_e^2)$, $\varepsilon_{ijk\ln} \sim \text{independentes}$

$\rho_i \sim \text{Normal}(0, \sigma_f^2)$, $\rho_i \sim \text{independentes}$

$\varepsilon_{ijk \ln}$ independentes de ρ_i

com as restrições:

$$\sum_{j=1}^2 \alpha_j = \sum_{k=1}^5 \beta_k = \sum_{k=1}^5 \sum_{j=1}^2 (\alpha\beta)_{jk} \sum_{l=1}^2 \sum_{j=1}^2 (\alpha\gamma)_{jl} = \sum_{l=1}^2 \sum_{k=1}^5 (\beta\gamma)_{kl} = \sum_{j=1}^2 \sum_{k=1}^5 \sum_{j=1}^2 (\alpha\beta\gamma)_{jkl} = 0.$$

Modelo 5. Modelo selecionado para a variável teor de fenólicos nos extratos alcoólico e aquoso.

$$y_{ijk \ln} = \mu + \alpha_j + \gamma_l + (\alpha\gamma)_{jl} + \varepsilon_{ijk \ln} ,$$

Para este modelo, $y_{ijk \ln}$, $\mu_{ijk \ln}$, α_i , γ_j , $(\alpha\gamma)_{jl}$ e $\varepsilon_{ijk \ln}$, têm as mesmas definições do Modelo 3 (ANEXO 2).

ANEXO 4

Modelo 6. Modelo completo para a variável atividade antioxidante (método do DPPH)

$$y_{ijklmn} = \mu + \rho_i + \alpha_j + \beta_k + \gamma_l + \theta_m + (\alpha\beta)_{jk} + (\alpha\gamma)_{jl} + (\beta\gamma)_{kl} + (\alpha\theta)_{jm} + (\beta\theta)_{km} + (\gamma\theta)_{lm} + (\alpha\beta\gamma)_{jkl} + (\alpha\beta\theta)_{jkm} + (\alpha\gamma\theta)_{jlm} + (\beta\gamma\theta)_{klm} + (\alpha\beta\gamma\theta)_{jklm} + \varepsilon_{ijklmn},$$

$\log y_{ijklmn}$: atividade antioxidante para o i -ésimo lote ($i=1$ ou 2), j -ésimo tipo de cultivo ($=1$ ou 2), k -ésimo produto ($k=1, \dots, 5$), submetido ao l -ésimo tipo de solvente ($l=1, 2$ ou 3), m -ésima concentração, correspondente à n -ésima unidade amostral ;

μ : média geral da atividade antioxidante;

ρ_i : efeito aleatório associado à variável resposta devido ao lote i ;

α_j : variação da atividade antioxidante devida ao tipo de tomate j ($j=1$ ou 2);

β_k : variação da atividade antioxidante devida ao produto k ($k=1, \dots, 5$);

γ_l : variação da atividade antioxidante devida ao extrato l ($l=1, 2$ ou 3);

θ_m : variação da atividade antioxidante devida ao concentração m ($m=1$ ou 2);

$(\alpha\beta)_{jk}$: variação da atividade antioxidante devida ao tipo de tomate j do produto k ;

$(\alpha\gamma)_{jl}$: variação da atividade antioxidante devida ao tipo de tomate j do extrato l ;

$(\beta\gamma)_{kl}$: variação da atividade antioxidante devida ao produto k do extrato l ;

$(\alpha\theta)_{jm}$: variação da atividade antioxidante devida ao tipo de tomate j da concentração m ;

$(\beta\theta)_{km}$: variação da atividade antioxidante devida ao produto k da concentração m ;

$(\gamma\theta)_{lm}$: variação da atividade antioxidante devida ao extrato l da concentração m ;

$(\alpha\beta\theta)_{jkm}$: variação da atividade antioxidante devida ao tipo de tomate j , produto k da concentração m ;

$(\alpha\gamma\theta)_{jlm}$: variação da atividade antioxidante devida ao tipo de tomate j , extrato l da concentração m ;

$(\beta\gamma\theta)_{klm}$: variação da atividade antioxidante devida ao produto k ; extrato l da concentração m ;

$(\alpha\beta\gamma)_{jkl}$: variação da atividade antioxidante devida ao tipo de tomate j , produto k do extrato l ;

ε_{ijklmn} : erro aleatório associado à observação y_{ijklmn} .

$$\varepsilon_{ijklmn} \sim \text{Normal}(0, \sigma_e^2), \varepsilon_{ijklmn} \sim \text{independentes}$$

$$\rho_i \sim \text{Normal}(0, \sigma_f^2), \rho_i \sim \text{independentes}$$

$$\varepsilon_{ijklmn} \text{ independentes de } \rho_i$$

com as restrições:

$$\sum_{j=1}^2 \alpha_j = \sum_{k=1}^5 \beta_k = \sum_{l=1}^3 \gamma_l = \sum_{m=1}^2 \theta_m =$$

$$\sum_{k=1}^2 \sum_{j=1}^2 (\alpha\beta)_{jk} = \sum_{l=1}^3 \sum_{j=1}^2 (\alpha\gamma)_{jl} = \sum_{l=1}^3 \sum_{k=1}^5 (\beta\gamma)_{kl} = \sum_{m=1}^2 \sum_{j=1}^2 (\alpha\theta)_{jm} = \sum_{m=1}^2 \sum_{k=1}^5 (\beta\theta)_{km} = \sum_{l=1}^3 \sum_{m=1}^2 (\gamma\theta)_{lm} =$$

$$= \sum_{j=1}^2 \sum_{k=1}^5 \sum_{m=1}^2 (\alpha\beta\theta)_{jkm} = \sum_{j=1}^2 \sum_{l=1}^3 \sum_{m=1}^2 (\alpha\gamma\theta)_{jlm} = \sum_{k=1}^5 \sum_{l=1}^3 \sum_{m=1}^2 (\beta\gamma\theta)_{klm} = \sum_{j=1}^2 \sum_{k=1}^5 \sum_{j=1}^2 (\alpha\beta\gamma)_{jkl} =$$

$$= \sum_{j=1}^2 \sum_{k=1}^5 \sum_{l=1}^3 \sum_{m=1}^2 (\alpha\beta\gamma\theta)_{jklm}.$$

Modelo 7. Modelo selecionado para a variável logarítmo atividade antioxidante (método do DPPH)

$$\log y_{ijklmn} = \mu + \rho_i + \alpha_j + \beta_k + \gamma_l + \theta_m + (\alpha\beta)_{jk} + (\alpha\gamma)_{jl} + (\beta\gamma)_{kl} + (\beta\theta)_{km} + (\gamma\theta)_{lm} + (\alpha\beta\gamma)_{jkl} + \varepsilon_{ijklmn},$$

$\log y_{ijklmn}$: logarítmo da atividade antioxidante para o i -ésimo lote ($i=1$ ou 2), j -ésimo tipo de cultivo ($j=1$ ou 2), k -ésimo produto ($k=1, \dots, 5$), submetido ao l -ésimo tipo de solvente ($l=1, 2$ ou 3), m -ésima concentração, n -ésima unidade amostral;

μ : média geral do logarítmo da atividade antioxidante;

ρ_i : efeito aleatório associado à variável resposta devido ao lote i ;

α_j : variação do logarítmo da atividade antioxidante devida ao tipo de tomate j ($j=1$ ou 2);

β_k : variação do logarítmo da atividade antioxidante devida ao produto k ($k=1, \dots, 5$);

γ_l : variação do logarítmo da atividade antioxidante devida ao extrato l ($l=1, 2$ ou 3);

θ_m : variação do logarítmo da atividade antioxidante devida à concentração m ($m=1$ ou 2);

$(\alpha\beta)_{jk}$: variação do logarítmo da atividade antioxidante devida ao tipo de tomate j do produto k ;

$(\alpha\gamma)_{jl}$: variação do logarítmo da atividade antioxidante devida ao tipo de tomate j do extrato l ;

$(\beta\gamma)_{kl}$: variação do logarítmo da atividade antioxidante devida ao produto k do extrato l ;

$(\beta\theta)_{km}$: variação do logarítmo da atividade antioxidante devida ao produto k da concentração m ;

$(\gamma\theta)_{lm}$: variação do logarítmo da atividade antioxidante devida ao extrato l da concentração m ;

$(\alpha\beta\gamma)_{jkl}$: variação do logarítmo da atividade antioxidante devida ao tipo de tomate j , produto k do extrato l ;

ε_{ijklmn} : erro aleatório associado à observação y_{ijklmn} .

$\varepsilon_{ijklmn} \sim Normal(0, \sigma_e^2)$, $\varepsilon_{ijklmn} \sim independentes$

$\rho_i \sim Normal(0, \sigma_f^2)$, $\rho_i \sim independentes$

ε_{ijklmn} independentes de ρ_i

Com as mesmas restrições de somas nulas consideradas no Modelo 6.

ANEXO 5

Modelo 8. Modelo completo para a variável atividade antioxidante (sistema β-caroteno/ácido linoléico).

$$y_{ijklmn} = \mu + \rho_i + \alpha_j + \beta_k + \gamma_l + \theta_m + (\alpha\beta)_{jk} + (\alpha\gamma)_{jl} + (\beta\gamma)_{kl} + (\alpha\theta)_{jm} + (\beta\theta)_{km} + (\gamma\theta)_{lm} + (\alpha\beta\gamma)_{jkl} + (\alpha\beta\theta)_{jkm} + (\alpha\gamma\theta)_{jlm} + (\beta\gamma\theta)_{klm} + (\alpha\beta\gamma\theta)_{jklm} + \varepsilon_{ijklmn},$$

Neste

modelo y_{ijklmn} , μ , ρ_i , α_j , β_k , γ_l , θ_m , $(\alpha\beta)_{jk}$, $(\alpha\gamma)_{jl}$, $(\beta\gamma)_{kl}$, $(\alpha\theta)_{jm}$, $(\gamma\theta)_{lm}$, $(\beta\theta)_{km}$, $(\gamma\theta)_{lm}$, $(\alpha\beta\theta)_{jkm}$, $(\alpha\gamma\theta)_{jlm}$, $(\beta\gamma\theta)_{klm}$, $(\alpha\beta\gamma)_{jkl}$ têm as mesmas definições e restrições do modelo D.6.

Modelo 9. Modelo selecionado para a variável atividade antioxidante (sistema β-caroteno/ácido linoléico).

$$y_{ijklmn} = \mu + \alpha_j + \beta_k + \gamma_l + \theta_m + (\alpha\beta)_{jk} + (\alpha\gamma)_{jl} + (\gamma\theta)_{lm} + \varepsilon_{ijklmn},$$

Neste

modelo y_{ijklmn} , μ , ρ_i , α_j , β_k , γ_l , θ_m , $(\alpha\beta)_{jk}$, $(\alpha\gamma)_{jl}$, $(\beta\gamma)_{kl}$, $(\alpha\theta)_{jm}$, $(\gamma\theta)_{lm}$, $(\beta\theta)_{km}$, $(\gamma\theta)_{lm}$, $(\alpha\beta\theta)_{jkm}$, $(\alpha\gamma\theta)_{jlm}$, $(\beta\gamma\theta)_{klm}$, $(\alpha\beta\gamma)_{jkl}$.

As componentes deste modelo têm as mesmas definições que no modelo D.6., e foi considerada a mesma parametrização.