

Helga Silva dos Reis

**Avaliação do teor de pigmentos naturais em diferentes espécies de
tomate cherry**



Universidade Fernando Pessoa

Faculdade de Ciências da Saúde

Porto, 2016

Helga Silva dos Reis

**Avaliação do teor de pigmentos naturais em diferentes espécies de
tomate cherry**



Universidade Fernando Pessoa

Faculdade de Ciências da Saúde

Porto, 2016

Helga Silva dos Reis



**Avaliação do teor de pigmentos naturais em diferentes espécies de
tomate cherry**

Atesto a originalidade do trabalho

(Helga Silva dos Reis)

Trabalho apresentado à Universidade Fernando Pessoa como parte dos requisitos para a obtenção do grau de Mestre em Ciências Farmacêuticas, sob a orientação da Professora Doutora Carla Sousa e Silva, com co-orientação da Professora Doutora Ana Cristina Vinha.

RESUMO

Tem-se demonstrado que o elevado consumo de vegetais e frutas pode reduzir o risco de diversas doenças não transmissíveis. As propriedades benéficas desses alimentos têm sido atribuídas, em grande parte, à presença de nutrientes e de substâncias não-nutrientes, com propriedades biológicas reconhecidas. O estilo de vida é um dos fatores de maior influência na saúde e bem-estar, sendo a alimentação um dos seus pilares. Uma alimentação saudável e equilibrada pode contribuir para a melhoria da qualidade de vida.

O tomate é parte integrante da alimentação humana, nomeadamente na dieta mediterrânica. Este fruto pertence à família Solanaceae, uma das famílias que apresenta maior expressão na dieta alimentar. Devido à sua disponibilidade durante todo o ano, o tomate e os seus derivados têm recebido mais atenção por parte dos investigadores, no que se refere ao estudo dos seus constituintes químicos, nomeadamente os carotenoides. Os carotenoides são um dos mais importantes grupos de pigmentos naturais, devido à sua vasta distribuição, diversidade estrutural, atividade antioxidante e benefícios para a saúde, tais como prevenção do cancro e de doença cardiovasculares. Nos últimos anos, tem sido dado especial ênfase à obtenção de dados mais concretos sobre os tipos e as concentrações de carotenoides presentes nos alimentos e às suas diversas atividades biológicas. Outros dos pigmentos que têm vindo a ser investigados são as clorofilas. Estas também têm um papel importante na promoção da saúde, nomeadamente na estimulação do sistema imune, atividade antioxidante e como agente quelante.

Os fatores genéticos e edafo-climáticos exercem uma influência direta nas características das diversas variedades de tomate, como a aparência, a consistência, a textura, a matéria seca e as propriedades sensoriais. Com base nestes conhecimentos, aliados à fusão das áreas da genética, química e biotecnologia, surgiu o conceito de híbrido e a criação de novas variedades de tomate. Apareceram assim novas espécies de tomate com características físicas e químicas distintas, destacando-se o tomate cherry.

Neste estudo determinaram-se, por meio de métodos espectrofotométricos, os teores de clorofilas, β -caroteno e licopeno, nas variedades híbridas de tomate (*cherry vermelho*,

cherry amarelo, cherry laranja, cherry chucha, cherry rama e kumato), comparando os resultados obtidos com os das variedades comuns (*redondo, chucha e rama*). O teor de carotenoides foi globalmente superior para as variedades híbridas. O *kumato* parece ser a exceção, uma vez que apresenta um teor de carotenoides mais baixo e o valor de clorofilas mais elevado de todas as variedades analisadas.

Palavras-chave: Hábitos alimentares; *Solanum lycopersicum* L.; híbridos; pigmentos naturais; clorofilas; carotenoides.

ABSTRACT

It has been shown that high consumption of vegetables and fruits can reduce the risk of various non transmittable diseases. The beneficial properties of such foods have been largely attributed to the presence of nutrients and non-nutrient substances with biological properties. Our lifestyle is one of the most influential factors in health and welfare, being the standard diet one of its pillars. A healthy and balanced diet can contribute to improve life quality.

Tomato is an essential food on the human diet, especially in the Mediterranean diet. This fruit belongs to the Solanaceae family, one of which has greater representation in human diet. Due to its availability throughout the year, tomato and its derivatives have been receiving great attention by researchers, especially in what concerns to the study of its chemical constituents, in particular the carotenoids. Carotenoids are one of the most important groups of natural pigments, due to their wide distribution, structural diversity, antioxidant activity and health benefits, such as cancer and cardiac diseases prevention. Lately, it has been given special attention in trying to achieve more concrete information on the types and concentrations of carotenoids in food and its various biological activities. One of the other pigments that have been investigated are the chlorophylls. It also has an important role in what concerns to the health field, particularly in stimulating the immune system, antioxidant activity and as a chelating agent.

Genetic, soil and climatic factors have a direct effect on the characteristics of different tomato varieties, such as appearance, consistency, texture, dry matter and sensorial properties. Based on this knowledge, combined with the merger of the areas such as genetics, chemistry and biotechnology, the concept of hybrid was born, as well as the creation of new varieties of tomato. So, new species of tomato came up, with different physical and chemical characteristics, with a special emphasis to cherry tomato.

In this study it was determined, by using spectrophotometric methods, the levels of chlorophylls, β -carotene and lycopene, which are bioactive compounds with antioxidant potential, on the hybrid tomato varieties (*red cherry*, *yellow cherry*, *orange cherry*,

chucha cherry, *rama cherry* and *kumato*), comparing the obtained results with the common varieties (*redondo*, *chucha* and *rama*). The carotenoid contents were higher for hybrid varieties, except for *kumato*, that presented the lowest carotenoid content but the highest chlorophyll contents.

Keywords: eating habits; *Solanum lycopersicum* L.; hybrids; natural pigments; chlorophylls; carotenoids.

AGRADECIMENTOS

Agradeço...

À Professora Doutora Carla Sousa e Silva, minha orientadora, e à Professora Doutora Ana Cristina Vinha, minha coorientadora, por todo o apoio e ajuda durante a elaboração desta monografia, pela dedicação, disponibilidade, sugestões, conhecimentos transmitidos, motivação, paciência e simpatia.

À minha amiga, Renata Lima, que esteve presente nos últimos anos do meu percurso académico. Obrigada pela amizade, pela interajuda, pelas confidências e pelos momentos únicos partilhados.

À minha família, amigos, colegas, professores e a todas as pessoas, que cruzaram a minha vida, e que direta ou indiretamente contribuíram para que o percurso desta caminhada fosse possível.

Obrigada!

ÍNDICE

RESUMO	I
ABSTRACT	III
AGRADECIMENTOS.....	V
ÍNDICE DE FIGURAS.....	VII
ÍNDICE DE TABELAS.....	VIII
CAPITULO I. INTRODUÇÃO.....	1
CAPITULO II. REVISÃO BIBLIOGRAFICA.....	3
2.1. O Tomate	3
2.1.1. Tomates híbridos	5
2.2. Compostos bioativos	7
2.2.1. Compostos fenólicos.....	9
2.2.2. Vitaminas C e E.....	12
2.2.3. Carotenoides.....	14
2.2.3.1. Licopeno.....	16
2.2.3.2. β -caroteno.....	18
2.2.4. Clorofilas.....	19
CAPÍTULO III. OBJETIVOS	21
CAPÍTULO IV. MATERIAIS E MÉTODOS.....	22
4.1. Amostras	22
4.2. Preparação dos extratos	23
4.3. Determinação dos carotenoides (licopeno e β -caroteno) e das clorofilas (<i>a</i> e <i>b</i>)	23
CAPÍTULO V. RESULTADOS E DISCUSSÃO	24
CAPÍTULO VI. CONCLUSÃO.....	31
CAPÍTULO VII. BIBLIOGRAFIA.....	33

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1 - Tomate e seus subprodutos	4
Figura 2 - Estrutura química de algumas classes de flavonoides	10
Figura 3 - Estrutura química genérica dos derivados do ácido cinâmico e do ácido benzóico, respetivamente.	11
Figura 4 - Estrutura química genérica dos tocoferóis	13
Figura 5 - Estrutura química do licopeno.....	15
Figura 6 - Estrutura química do β -caroteno.....	15
Figura 7 - Estrutura química do <i>trans</i> -licopeno.....	17
Figura 8 - Estrutura química do <i>cis</i> -licopeno	17
Figura 9 - Morfologia das variedades comuns de tomate.	22
Figura 10 - Morfologia das variedades híbridas de tomate estudadas.	22
Figura 11 - Clorofila <i>a</i> (mg/g) presente nas variedades comuns e híbridas de tomate... 25	
Figura 12 - Clorofila <i>b</i> (mg/g) presente nas variedades comuns e híbridas de tomate... 25	
Figura 13 - β -caroteno (mg/g) presente nas variedades comuns e híbridas de tomate ... 27	
Figura 14 - Licopeno (mg/g) presente nas variedades comuns e híbridas de tomate. 29	

ÍNDICE DE TABELAS

Tabela 1 - Teores de clorofilas e carotenoides obtidos nas variedades comuns de tomate.	24
Tabela 2 - Teores de clorofilas e carotenoides obtidos nas variedades híbridas de tomate.	24

CAPITULO I. INTRODUÇÃO

A alimentação é uma condição essencial para a sustentação da vida, tendo os alimentos de ser ingeridos na quantidade e variedade adequadas, de forma a permitir ao organismo a realização correta das diversas atividades fisiológicas e a prevenção das doenças causadas por uma má alimentação. Frutas e legumes têm vindo a ganhar muita importância no domínio da nutrição, devido a presença de fitoquímicos vitais e moléculas bioativas. O seu potencial como promotores da saúde é devido a presença de compostos funcionais (Perveen *et al.*, 2015).

O tomate (*Solanum lycopersicum* L.) é um alimento extremamente popular e muito versátil, podendo apresentar uma grande multiplicidade de cores, tamanhos e formas. Embora em termos botânicos seja um fruto, ele pode ser preparado e cozinhado como outros legumes. Visto como um importante componente da dieta humana, o tomate é pobre em gordura e valor energético, isento de colesterol e rico em vitamina C e vitamina E, ácido fólico e potássio. Além disso, o tomate e os seus produtos derivados são excelentes fontes de metabolitos secundários (compostos fenólicos), alguns dos quais desempenham um papel importante na prevenção do cancro e doenças cardiovasculares (Schiavon *et al.*, 2013). Um dos compostos bioativos responsáveis por estes benefícios é o licopeno, carotenoide predominante no tomate. No entanto, parece que este composto antioxidante torna-se mais eficaz quando consumido no tomate do que quando ingerido isoladamente, provavelmente devido ao efeito sinérgico com outros compostos presentes neste fruto (Bohn *et al.*, 2013).

Inicialmente, os programas de melhoramento do tomate focaram-se no desenvolvimento de híbridos de alta produtividade, resistentes ao stresse biótico e abiótico e na obtenção de frutos com prazo de validade prolongado, sendo as características organoléticas de menor importância. Mais recentemente, as empresas de sementes demonstram maior interesse no desenvolvimento de plantas híbridas que combinem o sabor com as vantagens convencionais das linhagens comerciais relacionadas com o rendimento, robustez e adaptabilidade a diferentes condições edafo-climáticas e pragas (Iglesias *et al.*, 2014).

O tomate (*S. lycopersicum*), nas suas diversas variedades, é uma presença assídua na dieta humana e os seus pigmentos naturais são importantes na promoção da saúde. Contudo o teor desses pigmentos é diferente conforme a variedade. Assim neste trabalho são avaliados os teores de alguns pigmentos naturais, reconhecidos pelos seus benefícios para a saúde, nomeadamente, clorofilas *a* e *b*, β -caroteno e licopeno em diferentes variedades híbridas de tomate, sendo os resultados obtidos comparados com os das variedades comuns de tomate, na tentativa de perceber se a importância comercial do desenvolvimento de híbridos será também importante para a promoção da saúde.

CAPITULO II. REVISÃO BIBLIOGRAFICA

2.1. O Tomate

O tomate (*Solanum lycopersicum* L.) é um fruto originário da América do Sul, cuja domesticação poderá ter ocorrido no México ou no Perú, continuando este a ser um tema de debate da atualidade (Méndez *et al.*, 2011; Paran e Knaap, 2007). Devido a esta circunstância, no México ainda se consomem variedades indígenas ou locais (Méndez *et al.*, 2011). O fruto foi inicialmente descrito como achatado, segmentado e de cor amarela, daí a sua denominação italiana de *Pomi d'oro* (“maçã de ouro”) (Paran e Knaap, 2007).

A introdução do tomate na Europa remonta aos tempos do descobrimento do Novo Mundo (Salman *et al.*, 2007), tendo sido cultivado neste continente como fonte de alimento por volta do século XVI, embora em alguns países tenha sido usado apenas para fins ornamentais por ser considerado tóxico, dado a sua semelhança com outras espécies do género *Solanum* reconhecidos pela sua toxicidade (Bergougnoux, 2014; Viuda-Martos *et al.*, 2014; Salman *et al.*, 2007). Porém e segundo dados bibliográficos, o tomate foi incorporado na culinária europeia entre o final do século XVII e início do século XVIII (Bergougnoux, 2014).

O interesse atual pelo tomate tem aumentado ao longo dos anos, devido à sua facilidade de crescimento em diferentes condições edafo-climáticas, tendo uma boa capacidade de adaptação a diferentes condições de stresse abiótico (frio, seca, entre outros); ao facto de ter um ciclo de vida relativamente curto; à sua insensibilidade ao fotoperíodo; à sua capacidade de autofertilização e homozigotia; à facilidade de polinização controlada e hibridação; à simplicidade da sua genética com um genoma relativamente pequeno e à sua capacidade para se propagar assexuadamente por enxertia, ou por regeneração das plantas inteiras a partir de diferentes partes da planta (Bergougnoux, 2014).

O tomate é uma fruta tipicamente vermelha (quando maduro) que se desenvolve num arbusto com 1 a 3 metros de altura, que se estende pelo chão ou se enrola em estacas ou em outras plantas. É uma planta perene, muitas vezes cultivada ao ar livre em climas

temperados (Perveen *et al.*, 2015). É uma fruta carnuda revestida exteriormente por um pericarpo espesso, que contém no seu interior sementes revestidas por uma placenta. As variedades de tomate atualmente cultivadas oferecem uma grande variedade de tamanhos, que vão desde o tomate cereja ou cherry (<20 g) ao tomate “coração de boi” (~500 g) (Bergougnoux, 2014). O tomate desempenha um papel importante na dieta humana, oferecendo uma mistura diversificada de nutrientes que são essenciais para a saúde e bem-estar (Faurobert *et al.*, 2007; Ilahy *et al.*, 2016). O consumo de tomate e dos seus derivados (tomate enlatado, molhos, sumos, sopas, concentrados) pode ser considerado um bom indicador nutricional de bons hábitos alimentares e estilos de vida saudáveis (George *et al.*, 2004; Viuda-Martos *et al.*, 2014), no entanto, cerca de 80% do tomate é consumido na forma de produtos transformados (Viuda-Martos *et al.*, 2014). Existem vários subprodutos resultantes do processamento deste fruto, nomeadamente polpa, pele e sementes (Figura 1), comumente considerados como “lixo” industrial. Uma maneira de tornar as empresas de processamento sustentáveis será reutilizar estes subprodutos, uma vez que estes são reconhecidos como boas fontes naturais de fibras dietéticas, proteínas, carotenoides, tocoferóis, entre outros compostos (George *et al.*, 2004; Vinha *et al.*, 2014a; Viuda-Martos *et al.*, 2014).

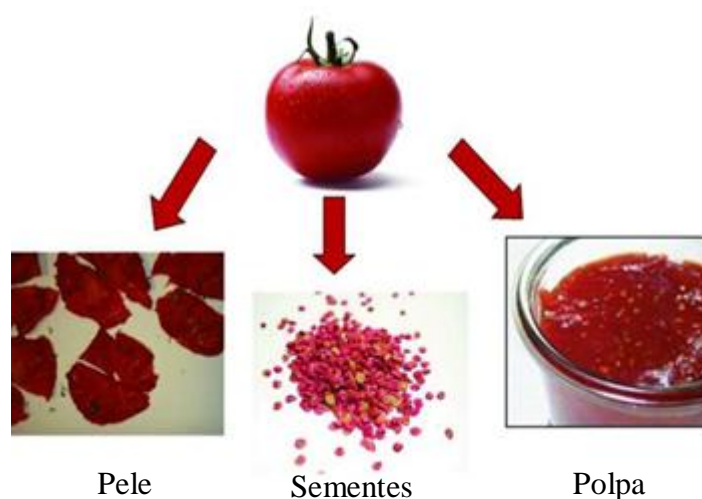


Figura 1 - Tomate e seus subprodutos (adaptado de Viuda-Martos *et al.*, 2014).

Pelos motivos supracitados, o consumo elevado de tomate durante todo o ano faz com que este fruto seja uma das principais fontes ricas em minerais (cálcio, magnésio e fósforo), vitaminas, fibra dietética total e compostos bioativos, cujos benefícios

biológicos são atualmente reconhecidos, podendo ser considerado como alimento funcional (Mladenovic *et al.*, 2014). Para além dos compostos não-nutrientes, este fruto é rico em proteínas e hidratos de carbono (Perveen *et al.*, 2015). No entanto, o principal destaque dado à composição do tomate foca-se nos elevados teores de compostos antioxidantes, nomeadamente nos compostos fenólicos, vitamina C e carotenoides, em particular, o licopeno (Vinha *et al.*, 2014a). Estas diferentes classes de fitoquímicos têm sido associados a vários benefícios para a saúde, os quais englobam a capacidade de proteger o organismo contra neoplasias (próstata, pulmão e estômago) e doenças cardiovasculares, reduzindo processos inflamatórios e baixando os níveis de colesterol sérico (Vinha *et al.*, 2014a; Ilahy *et al.*, 2016).

2.1.1. Tomates híbridos

Através da domesticação, pesquisa e técnicas de melhoramento implementadas por investigadores e profissionais agrários de todo o mundo, muitas variedades de tomate têm sido desenvolvidas, incluindo os híbridos, promovendo assim espécies de diferentes formas, cores e tamanhos (Bai e Lindhout, 2007).

Alguns dados bibliográficos referem que o primeiro tomate híbrido foi lançado no mercado em 1930 na Bulgária, e após algum tempo já era o genótipo mais cultivado pelos tomaticultores do mesmo país (Figueiredo, 2013). O termo “híbrido” refere-se a plantas que se produzem a partir de uma forma artificial, recorrendo a uma polinização cruzada. Os híbridos do tomate desenvolvem-se a partir de sementes produzidas através de uma polinização manual controlada das linhas parentais masculina e feminina (Naika *et al.*, 2006). O híbrido é assim o produto que resulta do cruzamento entre duas espécies geneticamente distintas (Híbridos em espécies autógamas. [Em linha]. Disponível em <docs13.abelhas.pt/207784467,PT,0,0,capitulo-9.pdf>. [Consultado em 01/06/2016]).

A obtenção de um híbrido não é muito fácil, dado ser necessário muito trabalho de pesquisa, para além do tempo e dos recursos económicos elevados. Na verdade, a obtenção de um híbrido resulta da formação de uma população base e da escolha dos progenitores utilizados para as hibridações, sendo, por isso, uma etapa bastante criteriosa, da qual depende o sucesso do programa de melhoramento (Figueiredo, 2013).

O processo de produção de sementes híbridas de tomate começa com a escolha de duas linhagens puras. De cada uma destas linhagens pode ser utilizado um progenitor masculino ou feminino, mas geralmente escolhe-se para fêmea a que origina maior produtividade de sementes. Recomenda-se uma proporção de uma planta da linha que vai doar o pólen (parental masculino) para cada quatro plantas que irão receber o pólen (parental feminino) (Híbridos em espécies autógamas. [Em linha]. Disponível em <docs13.abelhas.pt/207784467,PT,0,0,capitulo-9.pdf>. [Consultado em 01/06/2016]).

Apesar das hibridações serem técnicas biotecnológicas dispendiosas, o produto resultante, ou seja, as variedades híbridas de tomate apresentam muitas vantagens em comparação com as variedades originadas pela polinização livre, ou seja, variedades comuns (Naika *et al.*, 2006). A produção de híbridos é economicamente viável, devido à grande quantidade de sementes produzidas por uma única hibridação. Para além disso, estas variedades amadurecem mais cedo e são morfologicamente mais uniformes. Outro fator relevante foca-se no melhoramento da qualidade do fruto, o qual reúne características físicas e químicas mais apelativas para o consumidor final, além de conferir maior resistência a pragas e contaminações biológicas (Naika *et al.*, 2006; Figueiredo, 2013; Híbridos em espécies autógamas. [Em linha]. Disponível em <docs13.abelhas.pt/207784467,PT,0,0,capitulo-9.pdf>. [Consultado em 01/06/2016]).

Embora existam bastantes vantagens da obtenção de espécies híbridas, uma das desvantagens prende-se com a impossibilidade de reutilização das sementes das mesmas, sendo que o produtor tem que comprar novas sementes para cada colheita (Híbridos em espécies autógamas. [Em linha]. Disponível em <docs13.abelhas.pt/207784467,PT,0,0,capitulo-9.pdf>. [Consultado em 01/06/2016]).

Há, atualmente, no mercado diversas variedades de tomates híbridos, sendo o *cherry* aquele que parece ter maior expressão. O tomate *cherry* (*Solanum lycopersicon* var. *cerasiforme*), que resultou do cruzamento genético de sementes do tomate selvagem e do tomate doméstico, é de tamanho pequeno (1-3 cm de diâmetro), geralmente de forma redonda, com 10 a 30 g, tendo uma cor e um sabor mais intenso e mais doce (Rai *et al.*, 2014; Shahzad *et al.*, 2014; Nesbitt e Tanksley, 2002). Quando comparados com as

variedades comuns, estes tomates são mais saborosos e suculentos, o que os torna mais populares para consumo em salada (Rai *et al.*, 2014).

O tomate *cherry* tem teores significativamente mais elevados de nutrientes e de fibra (Shahzad *et al.*, 2014). As variedades de tomate *cherry* são habitualmente caracterizadas por elevado teor de matéria seca e de sólidos solúveis totais, em comparação com variedades de tamanho normal. Esta diferença deve-se ao maior teor de açúcares livres (frutose e glucose) e de ácidos orgânicos (cítrico e málico), o que conferem, para além de maior doçura, mais acidez e maior intensidade de sabor à maioria das variedades de tomate *cherry* (Raffo *et al.*, 2002). Os compostos fenólicos estão essencialmente concentrados na casca do tomate e, por essa razão, as variedades de tomate de pequenas dimensões, especialmente o tomate *cherry*, contêm níveis mais elevados dos referidos compostos, como consequência da maior relação área de superfície/volume (Rizzo *et al.*, 2015; Sahlin *et al.*, 2004).

2.2. Compostos bioativos

O conteúdo em compostos bioativos presentes no tomate depende de fatores genéticos (variedade), fatores ambientais (temperatura, luminosidade, disponibilidade de água, nutrientes do solo), técnicas agrícolas usadas (cultivares, reguladores do crescimento vegetal, amadurecimento, época da colheita), condições de armazenamento pós-colheita e processamento (Dumas *et al.*, 2003; Lenucci *et al.*, 2006; Raffo *et al.*, 2002; Vinha *et al.*, 2015; Vinha *et al.*, 2014b).

O tomate contém diferentes classes de substâncias com propriedades antioxidantes, como carotenoides (licopeno), flavonoides (rutina), ácidos fenólicos, ácido ascórbico (vitamina C) e tocoferóis (vitamina E) (Lenucci *et al.*, 2006; Sahlin *et al.*, 2004; Toor e Savage, 2006; George *et al.*, 2004; Mladenovic *et al.*, 2014). Assim, o tomate tem assumido o estatuto de alimento funcional, dado que vários estudos epidemiológicos evidenciam que o seu consumo ou o dos seus derivados previnem doenças crónicas, como o cancro e doenças cardiovasculares (Kuti e Konuru, 2005; Lam *et al.*, 2007; Méndez *et al.*, 2011). Atualmente, os consumidores estão cada vez mais conscientes de que para melhorar a qualidade de vida, reduzir danos para a saúde e diminuir os gastos

com tratamentos devem atentar na dieta alimentar, o que tem contribuído para o desenvolvimento e aumento desses gêneros alimentícios (Méndez *et al.*, 2011; Ilahy *et al.*, 2016).

Um antioxidante é uma substância que está presente nos alimentos em baixas concentrações e atrasa significativamente ou evita a oxidação do substrato oxidável (Kunwar e Priyadarsini, 2011; Kumar, 2011). Os antioxidantes protegem o organismo contra os radicais livres nocivos (Thorat *et al.*, 2013), podendo estes últimos ser definidos como átomos ou moléculas que contêm um ou mais elétrons livres desemparelhados nas suas orbitais (Pala e Gürkan, 2008). Os radicais livres são muito instáveis e reagem rapidamente com outros compostos, iniciando reações em cadeia que resultam na rutura celular ou em dano no ADN (Lenucci *et al.*, 2006). Os radicais livres e as espécies reativas de oxigénio têm origem em processos metabólicos essenciais no organismo ou em fontes externas, como a exposição a raio-X, ozono, fumo do cigarro, poluentes atmosféricos e químicos industriais (Lobo *et al.*, 2010). A defesa do organismo contra o stresse oxidativo, que é um desequilíbrio desfavorável entre a formação de radicais livres e as defesas antioxidantes, induzido pelos radicais livres, inclui mecanismos preventivos, mecanismos de reparação, defesas físicas e defesas antioxidantes. As defesas antioxidantes podem ser de natureza enzimática, tais como a superóxido dismutase, a glutathione peroxidase e a catalase, como não enzimática, incluindo-se o ácido ascórbico (vitamina C), o tocoferol (vitamina E), a glutathione, os carotenoides, os flavonoides, entre outros (Valko *et al.*, 2007; Lobo *et al.*, 2010). Para a sobrevivência é essencial um equilíbrio entre a formação de radicais livres e as defesas antioxidantes. O uso de uma fonte externa de antioxidantes pode ajudar o organismo a enfrentar o stresse oxidativo. Assim sendo, a procura de compostos naturais eficazes, não tóxicos, com atividade antioxidante tem vindo a ser intensificada nos últimos anos (Lobo *et al.*, 2010).

Recentemente tem havido um interesse crescente na investigação do papel dos antioxidantes de origem vegetal presente nos alimentos e, conseqüentemente, na saúde humana (Slavin e Lloyd, 2012). A capacidade antioxidante dos alimentos de origem vegetal deve-se ao facto de estes eliminarem os radicais livres que são responsáveis pelos danos oxidativos dos lípidos, proteínas e ácidos nucleicos (Cheung *et al.*, 2003).

De acordo com estudos epidemiológicos, os antioxidantes presentes nos alimentos estão intimamente relacionados com a prevenção de várias patologias, incluindo diferentes tipos de cancro, doenças cardiovasculares, doenças neurológicas, artrites e alterações relacionadas com o envelhecimento (Tabart *et al.*, 2009; Rousseaux *et al.*, 2005). O efeito antioxidante do tomate é atribuído ao sinergismo entre os vários componentes e não somente ao seu teor em licopeno (Aditivos & Ingredientes. [Em linha]. Disponível em <www.insumos.com.br/aditivos_e_ingredientes/materias/129.pdf>. [Consultado em 15/03/2016]). A análise de misturas de dois antioxidantes mostrou um sinergismo significativo entre o licopeno e a luteína, licopeno e β - caroteno, α -tocoferol e β - caroteno (Kotíková *et al.*, 2011), licopeno e α -tocoferol (Raiola *et al.*, 2015), bem como entre o ácido ascórbico e o α -tocoferol durante o processo de peroxidação lipídica (Hazewindus *et al.*, 2012). Tem-se observado que os efeitos benéficos associados ao consumo de tomate estão relacionados com o sinergismo entre as moléculas presentes neste fruto, em particular, entre o licopeno e o α -tocoferol, os quais mostram inibir a diferenciação de células HL-60 (células de leucemia promielocítica humana), a oxidação de lipoproteínas de baixa densidade (LDL) e a proliferação de células de carcinoma da próstata (Raiola *et al.*, 2015).

2.2.1. Compostos fenólicos

Os compostos fenólicos, metabolitos secundários em plantas (Lenucci *et al.*, 2006), são produzidos para proteção contra radiação UV, vírus e bactérias (Heleno *et al.*, 2015). A distribuição dos compostos fenólicos nos tecidos da planta a nível celular e subcelular não é uniforme, sendo que os insolúveis se encontram na parede celular e os solúveis em vacúolos (Pandey e Rizvi, 2009). São um dos grupos principais de componentes dietéticos não essenciais que tem sido associado à inibição da aterosclerose e cancro (Cheung *et al.*, 2003), podendo também reduzir o risco de doença cardíaca coronária (Li *et al.*, 2012). Permitem a quelatação de metais, inibindo a lipoxigenase e eliminando radicais livres (Cheung *et al.*, 2003). A atividade antioxidante destes compostos deve-se às suas propriedades redox que lhes permitem atuar como agentes redutores, dadores de hidrogénio, desativadores do oxigénio singleto e quelantes de metais (Kaur e Kapoor, 2002). Muitos compostos fenólicos exibem atividade antioxidante, anti-carcinogénica, antimicrobiana, antialérgica, anti-mutagénica e anti-inflamatória (Lenucci *et al.*, 2006).

Os flavonoides, cuja estrutura se pode observar na figura 2, representam o grupo mais estudado dos polifenóis (Pandey e Rizvi, 2009). Estes continuam a captar o interesse de cientistas de muitas áreas diferentes devido à sua diversidade estrutural, relevância biológica e ecológica, assim como à promoção da saúde e propriedades anti cancro associadas ao seu consumo (Williams e Grayer, 2004). Este grupo tem uma estrutura base comum, que consiste em dois anéis aromáticos unidos por três átomos de carbono que formam um heterociclo oxigenado (Pandey e Rizvi, 2009).

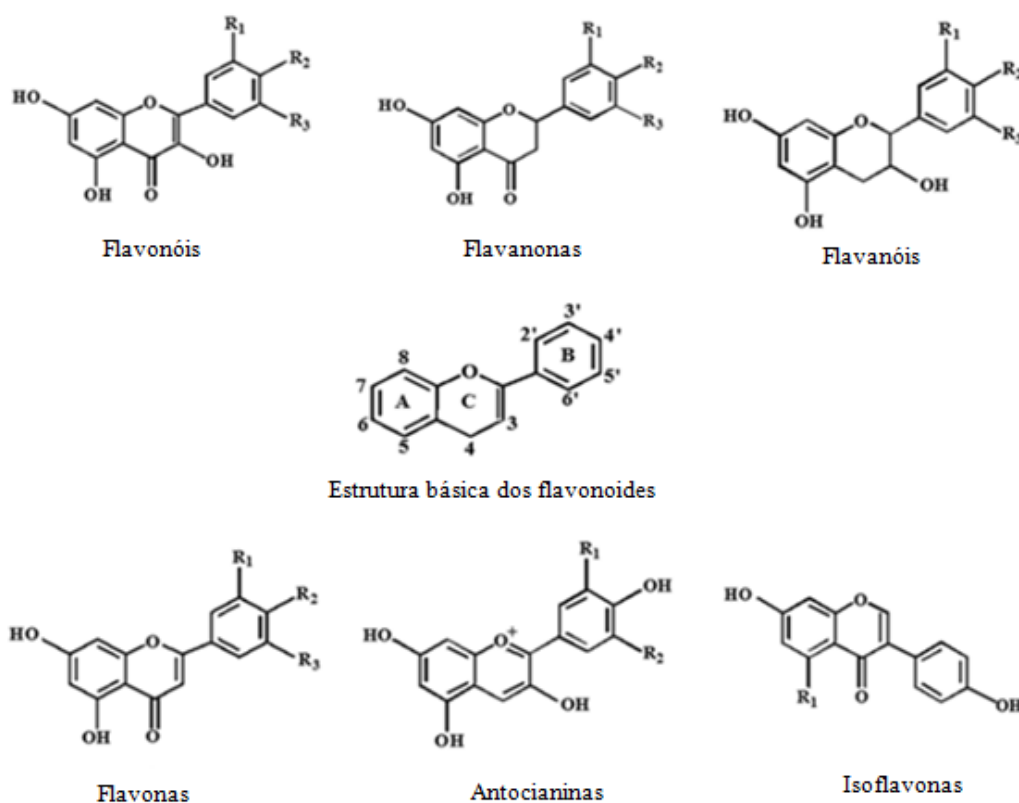


Figura 2 - Estrutura química de algumas classes de flavonoides (adaptado de Pandey e Rizvi, 2009).

Até à data, já foram identificadas mais de 4.000 variedades de flavonoides, muitas das quais responsáveis pelas cores atraentes das folhas, flores e frutos (Kumar e Pandey, 2013). Com base na variação do tipo de heterociclo envolvido, os flavonoides podem ser divididos em seis subclasses: flavonóis, flavonas, flavononas, flavanóis, antocianinas e isoflavonas. As diferenças individuais dentro de cada grupo resultam da variação no número e disposição dos grupos hidroxilo e do seu grau de alquilação e/ou glicosilação (Pandey e Rizvi, 2009; Kumar e Pandey, 2013). Os flavonoides atuam

como antioxidantes na inativação dos radicais livres, em ambos os compartimentos celulares, lipofílico e hidrofílico. Estes compostos têm a capacidade de doar átomos de hidrogénio e, portanto, inibir as reações em cadeia provocadas pelos radicais livres. Os flavonoides mais investigados são: a quercetina, a miricetina, a rutina e a naringenina (Barros *et al.*, 2012; Vinha *et al.*, 2014b).

Os ácidos fenólicos pertencem à família dos polifenóis e encontram-se em abundância nas plantas, dividindo-se em duas classes: os derivados do ácido benzóico e os derivados do ácido cinâmico, cuja estrutura química se representa na figura 3 (Pandey e Rizvi, 2009; Heleno *et al.*, 2015).

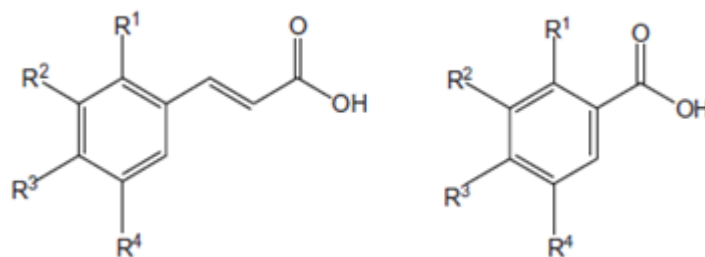


Figura 3 - Estrutura química genérica dos derivados do ácido cinâmico e do ácido benzóico, respetivamente (adaptado de Heleno *et al.*, 2015).

São frequentemente incluídos na dieta humana devido às suas propriedades bioativas, nomeadamente, propriedades antioxidantes, anti tumorais e antimicrobianas (Heleno *et al.*, 2015). Após a ingestão e absorção, os ácidos fenólicos são metabolizados, sendo conjugados por metilação, sulfatação e glucuronidação (Heleno *et al.*, 2015; Piazzon *et al.*, 2012). Os derivados do ácido hidroxicinâmico incluem os ácidos ferúlico, cafeico, *p*-cumárico e sinápico, enquanto os derivados do ácido hidroxibenzoico são os ácidos gálico, vanílico, siríngico e protocatecuico (Khoddami *et al.*, 2013). O ácido gálico, além de ter uso como adstringente e hemostático, também tem várias atividades biológicas relatadas, tais como antineoplásicas e bacteriostáticas, para além de propriedades anti-melanogénicas e antioxidantes. O ácido vanílico mostrou atividade anti-helmíntica, sendo também capaz de suprimir a fibrose hepática em lesões hepáticas crónicas (Heleno *et al.*, 2015). Os ácidos ferúlico e cafeico são os ácidos fenólicos mais

representativos da dieta humana (Heleno *et al.*, 2015; Piazzon *et al.*, 2012), sendo também os mais representativos no tomate, juntamente com o ácido *p*-cumárico e o ácido clorogénico (García-Valverde *et al.*, 2013; Kavitha *et al.*, 2014).

2.2.2. Vitaminas C e E

O tomate tem apenas níveis moderados de ácido ascórbico em comparação com outras frutas, mas dada a sua importância na dieta humana, bem como os seus altos níveis de consumo, este conteúdo em vitamina C pode trazer benefícios para o consumidor (Mellidou *et al.*, 2012). O ácido ascórbico, além de ser um micronutriente essencial (Rahman *et al.*, 2007), é um dos antioxidantes naturais mais poderosos e menos tóxicos, sendo o principal antioxidante hidrofílico contido neste fruto (Gülçin, 2012; Kotíková *et al.*, 2011). Trata-se de uma vitamina solúvel em água e encontra-se em altas concentrações em muitos alimentos de origem vegetal. É um redutor eficaz, reagindo com oxidantes (Gülçin, 2012). Alimentos ricos em vitamina C, além da prevenção do escorbuto, desempenham um papel protetor contra o desenvolvimento de cancro (Du *et al.*, 2012). As propriedades anti-escorbuto da vitamina C devem-se ao seu papel na síntese de colagénio em tecidos conjuntivos (Du *et al.*, 2012; Shishehbore e Aghmiri, 2014). Esta vitamina tem uma função biológica adicional bem estabelecida, sendo cofactor de várias enzimas importantes como as hidroxilases (Gülçin, 2012), as envolvidas na fotossíntese, na biossíntese de hormonas e na regeneração de antioxidantes, tais como o α -tocoferol (Gallie, 2013). Desempenha também um papel importante na síntese de neurotransmissores, noradrenalina e carnitina (Shishebbor e Aghmiri, 2014), na absorção de ferro e nas respostas imunes (Rodzericus *et al.*, 2009). A exposição luminosa é favorável à acumulação de vitamina C (Raffo *et al.*, 2006). No entanto, esta pode perder a sua atividade devido a uma série de fatores, incluindo o pH, o teor de humidade, o oxigénio, a temperatura e a catálise de iões metálicos (Demiray *et al.*, 2013).

A fração lipofílica do tomate contém vitamina E (maioritariamente α e γ -tocoferol), que é um antioxidante lipossolúvel que permite a eliminação de radicais livres nas membranas e no plasma (Kotíková *et al.*, 2011). Os tocoferóis podem ser classificados como tocoferóis e tocotrienóis, como se pode observar na figura 4, e dentro de cada uma

destas duas classes, existem quatro isómeros (α , β , γ e δ), perfazendo um total de oito isómeros de tocoferol (Gülçin, 2012; Raiola *et al.*, 2015; Rizvi *et al.*, 2014). Todos apresentam um anel de cromanol, com um grupo hidroxilo capaz de doar um átomo de hidrogénio para reduzir os radicais livres e uma cadeia lateral hidrofóbica que permite a penetração nas membranas biológicas (Gülçin, 2012; Raiola *et al.*, 2015).

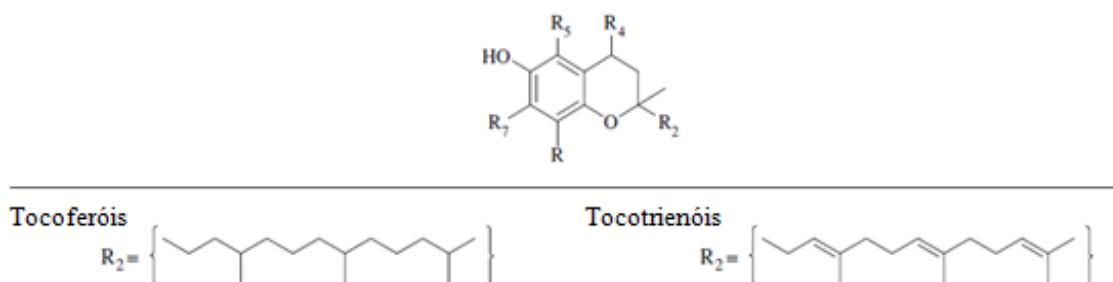


Figura 4 - Estrutura química genérica dos tocoferóis (adaptado de Gülçin, 2012).

O vitâmero mais importante é o α -tocoferol, encontrando-se presente nas membranas celulares e dos organelos (Gülçin, 2012). Esta localização da vitamina E permite-lhe agir como a primeira linha de defesa contra a peroxidação lipídica (Raiola *et al.*, 2015; Rizvi *et al.*, 2014). No tomate, a biossíntese dos tocoferóis depende do nível de irrigação, luz e salinidade do solo. Estudos em humanos colocaram em evidência o papel benéfico da vitamina E em doenças relacionadas com a inflamação e a função cardíaca (Raiola *et al.*, 2014; Raiola *et al.*, 2015; Saboori *et al.*, 2015). Também há evidências que esta vitamina pode diminuir o risco de diabetes tipo II e de cancro da próstata (Raiola *et al.*, 2015; Peters *et al.*, 2008; Montonen *et al.*, 2004). Permite estimular as defesas do organismo, bem como aumentar as respostas imunes humoral e celular (Raiola *et al.*, 2015), e ainda inibir a agregação plaquetária, prevenindo as doenças cardiovasculares (Rizvi *et al.*, 2014). Além disso, a presença de vitamina E no plasma está associada a um menor risco de desenvolvimento da doença de Alzheimer (Raiola *et al.*, 2015; Rizvi *et al.*, 2014). A deficiência da vitamina E pode causar anemia, devido ao dano oxidativo nas células vermelhas do sangue, deficiência da resposta imunitária, retinopatia e cataratas (Raiola *et al.*, 2015). A vitamina E é fortemente dependente da vitamina C, vitamina B3, selénio e glutatona (Rizvi *et al.*, 2014). A ingestão de tocoferóis a partir da matriz de tomate pode exercer um impacto diferente sobre a saúde em comparação com a simples suplementação em vitamina E,

devido à presença simultânea de outras moléculas antioxidantes neste fruto (Raiola *et al.*, 2015).

2.2.3. Carotenoides

Os carotenoides são responsáveis pelas cores apelativas das frutas e legumes e pela proteção dos organismos fotossintéticos dos danos causados pela luz excessiva (Perveen *et al.*, 2015). O Homem é incapaz de sintetizar carotenoides, estando assim totalmente dependente de carotenoides exógenos (Perveen *et al.*, 2015; Viuda-Martos *et al.*, 2014). Estes compostos desempenham um papel importante na proteção das membranas celulares e das lipoproteínas contra danos oxidativos (Stahl e Sies, 2003). Os benefícios do tomate são geralmente atribuídos aos carotenoides, antioxidantes lipossolúveis, que são capazes de reduzir o risco de certos tipos de cancro, arteriosclerose, formação de cataratas e doenças cardiovasculares (Frusciante *et al.*, 2007; Mladenovic *et al.*, 2014; Engelmann *et al.*, 2011). Alimentos ricos em carotenoides podem proteger o organismo contra cancros relacionados com o tabaco, como cancro da boca, da faringe, da laringe e pulmonar. No entanto, as evidências da relação entre os carotenoides presentes no tomate e a diminuição do risco de cancro são mais relevantes no caso do cancro da próstata. Entre outras funções, os carotenoides podem servir como precursores de fito-hormonas e de compostos aromáticos em plantas (Engelmann *et al.*, 2011). É também importante considerar a ação sinérgica dos carotenoides com outros compostos bioativos presentes em frutas e vegetais (Barba *et al.*, 2006).

Os dois principais carotenoides presentes no tomate são o licopeno, em maior concentração (80 a 90%), e o β -caroteno, em menor concentração (7 a 10%), representados nas figuras 5 e 6, respetivamente. O licopeno é responsável pela cor vermelha do fruto, enquanto o β -caroteno tem especial interesse devido à sua atividade pró-vitamina A (Frusciante *et al.*, 2007; Kotíková *et al.*, 2011; Demiray *et al.*, 2013; Mladenovic *et al.*, 2014).

2.2.3.1. Licopeno

O licopeno, pigmento responsável pela cor vermelha do tomate (Javanmardi e Kubota, 2006), é quimicamente um carotenoide acíclico com 11 ligações duplas conjugadas, normalmente todas na conformação *trans* (Perveen *et al.*, 2015). O licopeno é o intermediário chave na biossíntese de muitos carotenoides importantes, tais como o β -caroteno e as xantofilas (Perveen *et al.*, 2015).

É considerado um antioxidante com uma elevada atividade biológica no organismo, sendo mesmo o que apresenta uma maior atividade antioxidante de entre todos os antioxidantes da dieta (Javanmardi e Kubota, 2006; George *et al.*, 2004). De um modo geral, 85% do licopeno da dieta humana vem do tomate e de produtos à base de tomate (Perveen *et al.*, 2015). Em células intactas de tomate, o licopeno existe numa forma cristalina e está localizado dentro das membranas tilacóides dos cromoplastos (Viuda-Martos *et al.*, 2014). A quantidade de licopeno no tomate varia consideravelmente com os cultivares (fatores genéticos, em geral), o estágio de maturação e as condições de crescimento (Javanmardi e Kubota, 2006; Periago *et al.*, 2004). A síntese e degradação do licopeno no tomate é sensível à temperatura do ar e à intensidade da luz. As temperaturas elevadas ($> 32^{\circ}\text{C}$) são conhecidas por suprimir a síntese de licopeno (Collins e Perkins-Veazie, 2006).

Tem havido um grande interesse focado no licopeno devido à sua atividade preventiva de diversas patologias, como doenças cardiovasculares, eritema induzido pela luz solar, persistência do vírus do papiloma humano, e alguns tipos de cancro, tais como da próstata, gastrointestinal, epitelial (Barba *et al.*, 2006; Periago *et al.*, 2004) e pulmão (Rathore *et al.*, 2011). A diminuição do risco de cancro da próstata foi associada à alta ingestão de licopeno (Krumbein *et al.*, 2006; George *et al.*, 2004). Estudos sugerem que o licopeno sozinho não é o único responsável pela prevenção do cancro da próstata, mas sim o conjunto dos compostos bioativos presentes no tomate (Engelmann *et al.*, 2011). O licopeno tem capacidade de inibição da adenosina-desaminase, ação esta que desempenha um papel importante na regressão de tumores (Perveen *et al.*, 2015). Além disso, desempenha um papel importante na função do pulmão, bem como no crescimento fetal (Barba *et al.*, 2006). Foi demonstrado que o licopeno induz a

No plasma humano foram encontrados altos teores de *cis*-licopeno, indicando uma melhor absorção destes pelo organismo. Estes são mais disponíveis que as formas *trans* por serem mais solúveis nas micelas de ácidos biliares e por serem incorporados preferencialmente nos quilomicrons (Kobori *et al.*, 2010; Viuda-Martos *et al.*, 2014). De facto, os tomates transformados parecem aumentar a absorção de licopeno pelos tecidos do organismo, devido à disponibilidade aumentada atribuída à alteração no isómero geométrico durante o processamento e à alteração na composição e estrutura dos alimentos, o que promove a libertação de licopeno a partir do tecido da matriz do tomate (Periago *et al.*, 2004).

As principais alterações do licopeno do tomate durante o processamento são a isomerização e a oxidação (Kuti e Konuru, 2005). Fatores ambientais, tais como oxigénio, luz e temperatura podem ser muito importantes para a isomerização e auto-oxidação do licopeno em produtos de tomates processados (Demiray *et al.*, 2013).

2.2.3.2. β -caroteno

O β -caroteno é um pigmento de cor vermelha-alaranjada forte, abundante em plantas e frutos. Ele é importante não só pela cor que confere aos alimentos, mas também por causa da infinidade de benefícios que traz à saúde (Gul *et al.*, 2015). É considerado o principal carotenoide presente na dieta humana, além de ser a principal fonte de vitamina A em seres humanos (Grune *et al.*, 2010; Gul *et al.*, 2015; Boon *et al.*, 2010). A vitamina A é importante para muitas funções do corpo humano, sendo essencial para o desenvolvimento embrionário, para a função do sistema imunológico e para a visão (Grune *et al.*, 2010; Boon *et al.*, 2010).

O β -caroteno tem uma elevada capacidade antioxidante, podendo funcionar como um captador de radicais lipídicos e como supressor do oxigénio singlete (Grune *et al.*, 2010; Donhowe *et al.*, 2014; Raiola *et al.*, 2014), sendo responsável pela redução de doenças cardíacas e de certos tipos de cancro, pelo reforço do sistema imunitário e pela proteção contra a degenerescência macular própria da idade, que é a principal causa de cegueira irreversível em adultos. Promove também o bom crescimento e desenvolvimento, a função gastrointestinal e o funcionamento dos sistemas reprodutores

(Gul *et al.*, 2015). Existem evidências, *in vivo* e *in vitro*, que o β -caroteno evita danos foto-oxidativos e protege a pele de queimaduras solares (eritema solar) (Stahl e Sies, 2003; Raiola *et al.*, 2014). Ele é usado clinicamente para atenuar os efeitos secundários (fotossensibilidade) provocados pela doença hereditária protoporfíria eritropoiética (Stahl e Sies, 2003). A deficiência de β -caroteno pode resultar em xeroftalmia, cegueira e morte prematura (Gul *et al.*, 2015; Mladenovic *et al.*, 2014).

A crescente sensibilização para os potenciais benefícios do β -caroteno para a saúde levou ao desenvolvimento de alimentos funcionais enriquecidos com β -caroteno. A incorporação de β -caroteno em vários sistemas alimentares está limitada pela sua fraca solubilidade em água e instabilidade na presença de luz, calor e oxigénio (Gul *et al.*, 2015). O β -caroteno está naturalmente na forma *trans*, contudo alguma quantidade está presente em alimentos na forma *cis* (Grune *et al.*, 2010; Gul *et al.*, 2015). Todos os *trans*- β -carotenos sofrem imediatamente oxidação térmica e química, isomerização e fotossensibilização, quando expostos a oxigénio, luz e alta temperatura durante o processamento e armazenamento (Gul *et al.*, 2015).

2.2.4. Clorofilas

A clorofila é um pigmento verde encontrado na maioria das plantas (Inanç, 2011) e algas verdes (Vivek *et al.*, 2013), localizando-se nos cloroplastos (Streit *et al.*, 2005). Dá cor aos vegetais e a várias frutas, desempenhando papéis fundamentais na fotossíntese (Inanç, 2011; Streit *et al.*, 2005). Não pode ser sintetizada pelos tecidos animais, tendo que ser obtida por estes a partir do alimento. Existem quatro tipos de clorofilas: *a*, *b*, *c* e *d* (Inanç, 2011; Lanfer-Marquez, 2003). A clorofila *a*, de cor amarela-esverdeada, é um pigmento fotossintético primário das plantas verdes, transferindo a energia da luz para um aceitador químico (Inanç, 2011). Este tipo de clorofila é o mais abundante e o mais importante, correspondendo a 75% dos pigmentos verdes encontrados nos vegetais (Lanfer-Marquez, 2003). Existem pigmentos acessórios, como a clorofila *b*, *c* e *d*, que na fotossíntese auxiliam na absorção de luz e transferência da energia radiante para os centros de reação. A clorofila *b* encontra-se em plantas superiores, algas verdes e em algumas bactérias. A clorofila *c* encontra-se em

feofitas e diatomáceas. A clorofila *d*, tal como a clorofila *a*, encontra-se em algumas algas vermelhas (Inanç, 2011; Streit *et al.*, 2005).

São atribuídas às clorofilas propriedades terapêuticas, como a estimulação do sistema imunológico, a ajuda no combate à sinusite, a purificação do sangue e do organismo, permitindo a limpeza de toxinas, a coadjuvação no rejuvenescimento e na desintoxicação do fígado (Inanç, 2011), permitindo ainda regular os níveis de açúcar no sangue (Vivek *et al.*, 2013). A clorofila tem efeitos anti-inflamatórios e desodorantes, assim como atividade eritropoiética e anti-hipertensiva, tendo também efeitos positivos na cicatrização de feridas (Inanç, 2011; Lanfer-Marquez, 2003). Pode ainda funcionar como agente preventivo do cancro (Inanç, 2011), doenças coronárias, diabetes e cataratas (Lanfer-Marquez, 2003). A clorofila aumenta os níveis de ferro no sangue, o que é especialmente importante no caso de mulheres grávidas ou a amamentar (Vivek *et al.*, 2013). É considerada uma fonte de nutrientes antioxidantes, ajudando a neutralizar os radicais livres responsáveis por danos nas células saudáveis (Inanç, 2011). Devido à sua cor e às propriedades físico-químicas, a clorofila é também usada como aditivo em produtos alimentares e como corante natural (Streit *et al.*, 2005). Ao longo do amadurecimento o tomate vai mudando a sua cor de verde para vermelho, dado que há uma degradação da clorofila e um aumento dos carotenoides (Llorente *et al.*, 2016; Polder *et al.*, 2004)

CAPÍTULO III. OBJETIVOS

- Avaliar o teor de carotenoides (licopeno e β -caroteno) e de clorofilas (*a* e *b*) nas diversas variedades de tomates híbridos atualmente existentes no mercado, nomeadamente, *cherry vermelho*, *cherry amarelo*, *cherry laranja*, *cherry chucha*, *cherry rama* e *kumato*, comparando os resultados com os obtidos para as variedades comerciais comuns, tais como *redondo*, *chucha* e *rama*.
- Comparar os teores de carotenoides e clorofilas na composição química das diferentes variedades de tomates analisadas.

CAPÍTULO IV. MATERIAIS E MÉTODOS

4.1. Amostras

As diferentes variedades de tomate estudadas foram adquiridas comercialmente no mercado nacional entre outubro e dezembro do ano de 2015. Estabeleceram-se dois grupos de amostras: variedades comuns (*redondo*, *chucha* e *rama*) e variedades híbridas (*cherry vermelho*, *cherry amarelo*, *cherry laranja*, *cherry chucha*, *cherry rama* e *kumato*), que se podem observar nas figuras 9 e 10, respetivamente, totalizando 9 amostras de tomate. Antes do procedimento analítico, todas as amostras foram lavadas em água corrente, secas com papel absorvente e submetidas a um processo de trituração, com o auxílio de um bisturi e de um almofariz. Após homogeneização da amostra, procedeu-se à extração e análise dos compostos a determinar.



Figura 9 - Morfologia das variedades comuns de tomate.

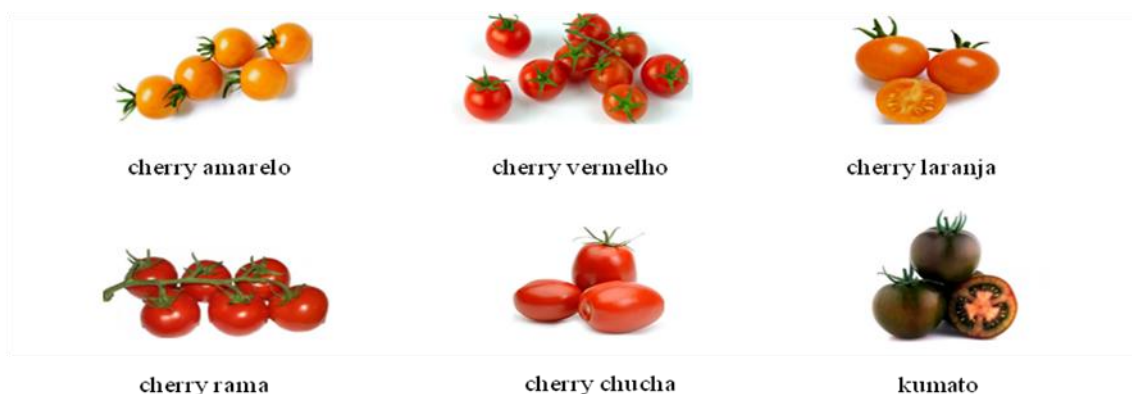


Figura 10 - Morfologia das variedades híbridas de tomate estudadas.

4.2. Preparação dos extratos

Para a obtenção dos extratos recorreu-se a uma mistura de acetona/n-hexano 4:6 (v/v). Para cada amostra estudada, prepararam-se extratos de 1,0 g de tomate em 10,00 mL de solvente, em triplicado. Após homogeneização por centrifugação (Labofrege 200, Heraeus Sepatech), durante 30 minutos e a 3500 rpm, foram recolhidos os sobrenadantes para efetuar as leituras das absorvências aos comprimentos de onda de 453, 505, 645 e 663 nm, segundo o método descrito posteriormente.

4.3. Determinação dos carotenoides (licopeno e β -caroteno) e das clorofilas (*a* e *b*)

As clorofilas e os carotenoides foram quantificados por espectrofotometria, utilizando-se um espectrofotómetro de marca Shimadzu – UV spectrophotometer. A metodologia seguiu o método analítico descrito por Nagata e Yamashita (1992), posteriormente validado por Vinha *et al.* (2014b). Aproximadamente 1,0 g de cada amostra foi submetido a um processo de extração, sendo posteriormente efetuada a leitura das absorvências dos sobrenadantes, aos comprimentos de onda anteriormente referidos. Os teores de licopeno e de β -caroteno foram quantificados segundo as seguintes equações:

- Licopeno (mg/g) = $-0,0458A_{663} + 0,204A_{645} + 0,372A_{505} - 0,0806A_{453}$
- β -caroteno (mg/g) = $0,216A_{663} - 1,22A_{645} - 0,304A_{505} + 0,452A_{453}$

Os teores de clorofila *a* e clorofila *b* foram quantificados de acordo com as seguintes equações:

- Clorofila *a* (mg/g) = $0,999A_{663} - 0,0989A_{645}$
- Clorofila *b* (mg/g) = $-0,328A_{663} + 1,77A_{645}$

Os resultados foram obtidos a partir de três amostras diferentes para cada variedade de tomate, escolhidas de forma aleatória e os valores apresentados em média \pm desvio padrão.

CAPÍTULO V. RESULTADOS E DISCUSSÃO

Neste capítulo serão apresentados e discutidos os teores de clorofilas e carotenoides obtidos nas diferentes variedades de tomate estudados. Nas tabelas 1 e 2 e nas figuras 11 a 14 estão apresentados os resultados obtidos experimentalmente.

Tabela 1 - Teores de clorofilas e carotenoides obtidos nas variedades comuns de tomate.

Teores de clorofilas e carotenoides (mg/g)				
Variedade	Clorofila <i>a</i>	Clorofila <i>b</i>	β -caroteno	Licopeno
<i>chucha</i>	0,086±0,001	0,276±0,004	0,046±0,001	0,14±0,02
<i>rama</i>	0,171±0,005	0,274±0,002	0,100±0,002	0,115±0,005
<i>redondo</i>	0,144±0,005	0,47±0,02	0,088±0,002	0,165±0,003

Resultados expressos em média \pm desvio padrão, em triplicado.

Tabela 2 - Teores de clorofilas e carotenoides obtidos nas variedades híbridas de tomate.

Teores de clorofilas e carotenoides (mg/g)				
Variedade	Clorofila <i>a</i>	Clorofila <i>b</i>	β -caroteno	Licopeno
<i>cherry vermelho</i>	-----*	-----*	0,164±0,002	0,21±0,01
<i>cherry amarelo</i>	-----*	-----*	0,089±0,004	-----*
<i>cherry laranja</i>	-----*	-----*	0,189±0,008	0,056±0,003
<i>cherry rama</i>	0,17±0,01	0,55±0,04	0,180±0,006	0,22±0,02
<i>cherry chucha</i>	-----*	-----*	0,15±0,03	0,180±0,009
<i>kumato</i>	2,08±0,03	1,43±0,07	0,064±0,005	0,082±0,001

Resultados expressos em média \pm desvio padrão, em triplicado. *valores não detetados.

A realização deste estudo foi levada a cabo em dezembro, com tomates adquiridos entre outubro e dezembro em superfícies comerciais. Na tabela 1 encontram-se representados os valores obtidos para os teores de clorofilas (*a* e *b*) e de carotenoides (β -caroteno e licopeno) das variedades de tomate comum (*chucha*, *rama* e *redondo*). Na tabela 2 estão apresentados os valores dos teores dos mesmos pigmentos, determinados nas variedades híbridas de tomate (*cherry vermelho*, *cherry amarelo*, *cherry laranja*, *cherry chucha*, *cherry rama* e *kumato*).

Relativamente ao teor de clorofila *a*, como se pode comprovar na representação gráfica da figura 11, o seu teor é significativamente mais elevado no *kumato* (2,08 mg/g) e o

valor mais baixo foi o obtido para o tomate *chucha* (0,086 mg/g), não tendo sido possível determinar os teores de clorofila *a* nas variedades híbridas *cherry vermelho*, *cherry amarelo*, *cherry laranja* e *cherry chucha*.

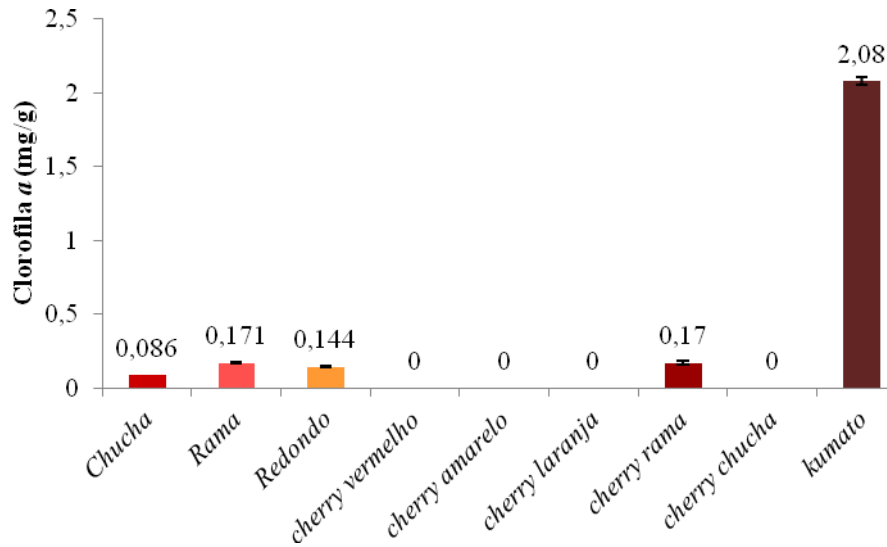


Figura 11 - Clorofila *a* (mg/g) presente nas variedades comuns e híbridas de tomate.

A figura 12 representa graficamente os teores de clorofila *b*, para as nove variedades de tomate estudadas. O *kumato* também apresenta um teor de clorofila *b* significativamente mais elevado (1,43 mg/g), sendo o tomate *rama* aquele que apresenta um teor mais baixo (0,274 mg/g), seguindo-se, com um valor muito próximo deste, o tomate *chucha* (0,276 mg/g). Tal como se verificou para a clorofila *a*, também a determinação da clorofila *b* não foi possível para as variedades híbridas *cherry vermelho*, *cherry amarelo*, *cherry laranja* e *cherry chucha*.

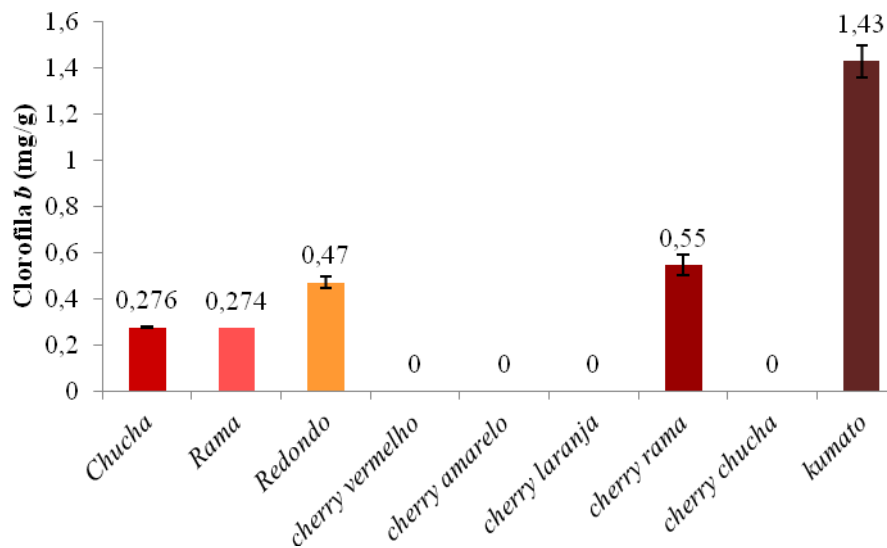


Figura 12 - Clorofila *b* (mg/g) presente nas variedades comuns e híbridas de tomate.

Da análise destes dois gráficos verifica-se que não foi possível determinar o teor de clorofilas *a* e *b* na maioria das variedades híbridas. O *kumato* foi o que apresentou superioridade quantitativa, nos teores de clorofila *a* e *b*, com diferenças significativas em relação a todos os outros. Verificou-se que as variedades de tomate comuns (*chucha*, *rama* e *redondo*) apresentam teores mais elevados de clorofila *b*, quando comparados com os teores de clorofila *a* para estas mesmas variedades. A variedade *cherry rama* apresenta um teor de clorofila *b* cerca de três vezes superior ao teor de clorofila *a*, enquanto no *kumato* o teor de clorofila *b* é significativamente menor que o de clorofila *a*. Costache *et al.* (2012), usando acetona como solvente extrator, obteve teores de clorofila *a*, para as variedades de tomate comum, que variaram entre 0,0398 mg/g e 0,0465 mg/g e para as variedades de tomate *cherry*, que se posicionaram entre 0,0412 mg/g e 0,0554 mg/g. Para os teores de clorofila *b*, o mesmo autor, obteve valores que variaram entre 0,0653 mg/g e 0,0748 mg/g para as variedades de tomate comum e entre 0,0623 mg/g e 0,0721 mg/g para as variedades de tomate *cherry*. Estes valores são bastante inferiores aos obtidos no presente estudo para as variedades em que foi possível detetar clorofilas, *chucha*, *rama*, *redondo*, *cherry rama* e *kumato*. A discrepância de resultados, entre este estudo e o do referido autor, poderá dever-se a vários fatores, entre os quais, métodos de extração distintos e diferente origem do tomate, sendo que neste estudo foram usados frutos portugueses e espanhóis e no de Costache *et al.* (2012) estes tinham origem romena.

A determinação da clorofila é de grande importância, uma vez que esta apresenta muitos benefícios para a saúde. Ajuda no crescimento e reparação de tecidos, bem como no tratamento de feridas infetadas, estimula os glóbulos vermelhos na captação de oxigénio e na cedência eficiente de iões magnésio ao organismo. A clorofila é também útil na assimilação e quelatação de cálcio e de alguns metais pesados. Juntamente com outras vitaminas, tais como A, C e E, a clorofila ajuda a neutralizar os radicais livres que causam danos nas células saudáveis. A clorofila tem também propriedades antimutagénicas e anticancerígenas, uma vez que, devido à sua estrutura física e química, funciona como agente quelante, reduzindo a capacidade dos agentes carcinogénicos se ligarem ao ADN em diferentes órgãos do corpo (Kizhedath e Suneetha, 2011).

Os teores de β -caroteno, para as variedades estudadas, estão representados graficamente na figura 13. Observa-se que a variedade *cherry laranja* é a que apresenta o teor mais elevado de β -caroteno (0,189 mg/g), o que pode ser justificado pelo facto de o β -caroteno ser um pigmento de cor vermelho-alaranjado, seguindo-se, com um valor relativamente próximo deste, a variedade *cherry rama* (0,180 mg/g). O tomate *chucha* apresentou o teor mais baixo (0,046 mg/g). A variedade *cherry amarelo* (0,089 mg/g) apresentou um teor de β -caroteno praticamente igual ao obtido para a variedade *redondo* (0,088 mg/g), sendo ambos os valores muito próximos aos observados no tomate *rama* (0,100 mg/g).

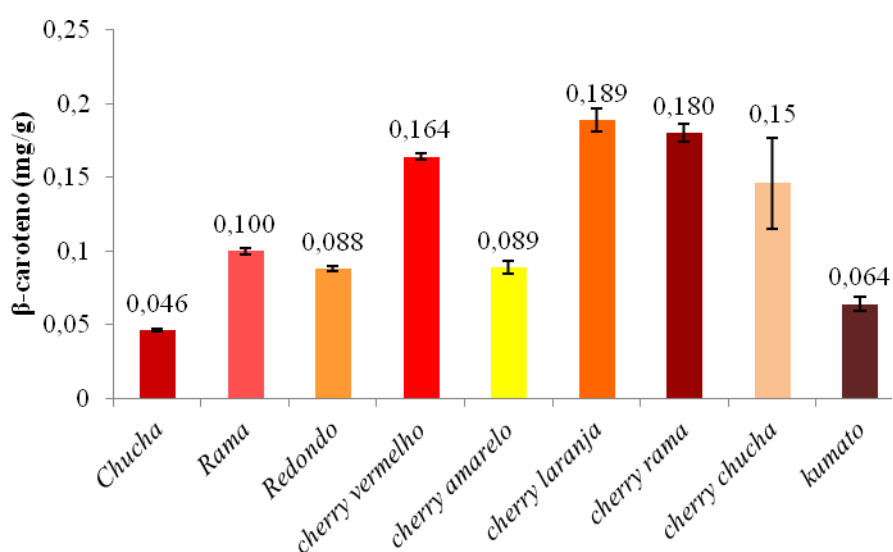


Figura 13 - β -caroteno (mg/g) presente nas variedades comuns e híbridas de tomate

Leonardi *et al.* (2000) estudaram tomate de origem italiana, realizando a extração com tetra-hidrofurano, na presença de hidroxitolueno butilado, e a análise por cromatografia líquida de alta resolução (HPLC), e referem teores de β -caroteno entre 0,0008 mg/g e 0,0105 mg/g, sendo os valores mais elevados obtidos para as variedades de tomate *cherry*. Raffo *et al.* (2006) analisaram tomate *cherry vermelho* (*Lycopersicon esculentum* cv. Naomi F1) de origem italiana (Sicília), seguindo o mesmo procedimento que Leonardi *et al.* (2000) e obtiveram um teor de β -caroteno de 0,0084 mg/g. Gama *et al.* (2006) estudaram tomates com origem brasileira e, usando hexano/acetona (1:1, v/v) para o processo de extração e espectrofotometria para a determinação, obtiveram um teor de β -caroteno de 0,0597 mg/g. D'Evoli *et al.* (2013) analisaram tomate *cherry* de origem italiana, usando tetra-hidrofurano para o processo extrativo e cromatografia

HPLC, e referem teores de β -caroteno de 0,01 mg/g. Pinela *et al.* (2012) obtiveram 0,0051 mg/g para o teor de β -caroteno, num estudo realizado com quatro variedades de tomate cultivadas em Portugal (Bragança), entre as quais se encontra a variedade *redondo*, usando uma mistura de acetona/hexano (4:6) para o processo extrativo e determinação espectrofotométrica. Apesar da variedade de tomate estudada, do método de extração e determinação do estudo de Pinela *et al.* (2012) serem equivalentes ao do trabalho experimental desta tese, o valor obtido neste último é significativamente superior (0,088 mg/g). Da análise comparativa possível entre estes diversos estudos, verifica-se que os teores de β -caroteno encontrados no âmbito desta dissertação são bastante mais elevados, no entanto o teor obtido para a variedade *chucha* é menor que o determinado por Gama *et al.* (2006). São vários os fatores que poderiam justificar esta diferença, desde logo a origem e as variedades de tomate, as condições edafoclimáticas, os métodos de extração e de determinação.

O β -caroteno é um dos carotenoides mais comuns e amplamente estudados. É o precursor mais potente da vitamina A (Gul *et al.*, 2015). A sua presença em alimentos e em corantes é importante, devido aos seus benefícios para a saúde, tais como a capacidade antioxidante, melhoria do sistema imunitário, associação com menor risco de doenças cardíacas e de alguns tipos de cancro, assim como proteção contra a degenerescência macular própria da idade (Gul *et al.*, 2015; Liu *et al.*, 2016). Após a sua absorção, o β -caroteno é convertido em vitamina A, que desempenha um papel importante na visão, no crescimento, no desenvolvimento e manutenção da pele e na imunidade (Sommer e Vyas, 2012).

Na figura 14 estão representados os teores de licopeno encontrados nas variedades propostas para o estudo. Da sua análise, constata-se que a variedade *cherry rama* apresentou o teor mais elevado de licopeno (0,22 mg/g), sendo que a variedade *cherry laranja* é a que possui um valor mais baixo (0,056 mg/g), não tendo sido possível determinar o teor de licopeno para a variedade *cherry amarelo*. Verifica-se ainda que as variedades híbridas *cherry chucha* (0,180 mg/g), *cherry vermelho* (0,21 mg/g) e *cherry rama* (0,22 mg/g) apresentaram teores de licopeno bastante mais elevados que as restantes variedades híbridas estudadas, mas que os tomates *cherry laranja* (0,056 mg/g) e *kumato* (0,082 mg/g) exibiram teores mais baixos que as variedades comuns

chucha (0,14 mg/g), *rama* (0,115 mg/g) e *redondo*, (0,165 mg/g). A coloração observada nestas variedades e tendo em consideração o facto do licopeno ser um pigmento responsável por isso, justificam os resultados obtidos.

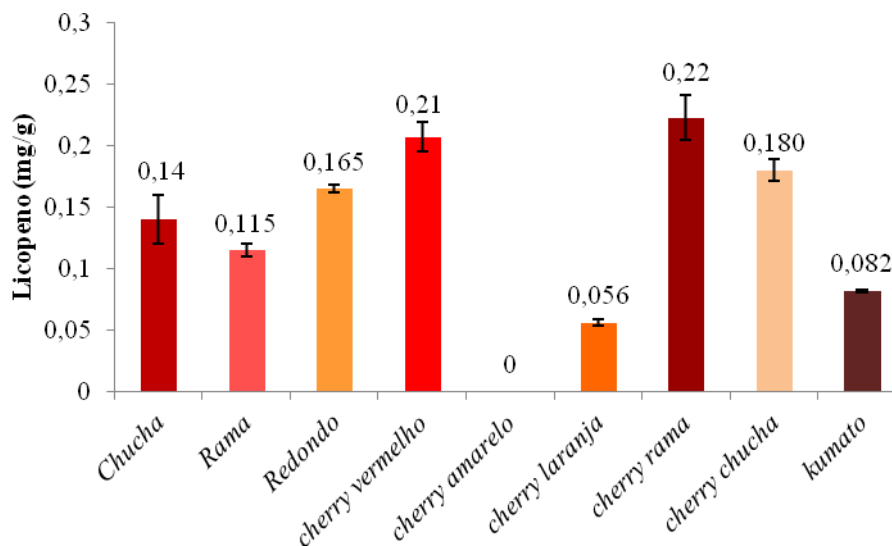


Figura 14 - Licopeno (mg/g) presente nas variedades comuns e híbridas de tomate.

Leonardi *et al.* (2000) referiram teores de licopeno entre 0,0011mg/g e 0,108 mg/g, para tomate de origem italiana usando tetra-hidrofurano, na presença de hidroxitolueno butilado, para o processo de extração e posterior análise por cromatografia líquida de alta resolução (HPLC). Lenucci *et al.* (2006) estudaram diferentes cultivares de tomate *cherry* de origem italiana, usando para a extração 0,05% (m/v) hidroxitolueno butilado em acetona e etanol (1:1, v/v), com ressuspensão em clorofórmio e diluição posterior numa mistura de acetonitrilo/metanol/hexano/diclorometano (2:1:1:1, v/v/v/v), seguida de análise por HPLC com deteção UV-vis, e obtiveram teores de licopeno entre 0,043 mg/g e 0,120 mg/g. Martínez-Valverde *et al.* (2002) estudaram variedades comerciais de tomate com origem espanhola, empregando uma mistura hexano/acetona/etanol (2:1:1, v/v/v) para o processo extrativo, seguido de determinação espectrofotométrica, e obtiveram teores de licopeno que variaram entre 0,0186 mg/g e 0,0649 mg/g. Raffo *et al.* (2006) obtiveram para o tomate *cherry vermelho* (*Lycopersicon esculentum* cv. Naomi F1), com origem em Itália (Sicília), um teor de licopeno de 0,0104 mg/g, seguindo o mesmo procedimento experimental de Leonardi *et al.* (2000). Gama *et al.* (2006) refere um teor de licopeno de 1,201 mg/g para tomate de origem brasileira, usando hexano/acetona (1:1, v/v) no processo de extração e determinação

espectrofotométrica. D'Evoli *et al.* (2013) analisaram tomate *cherry* produzido em Itália, usando tetra-hidrofurano para o processo extrativo e análise cromatográfica (HPLC), e obtiveram teores de licopeno de 0,0512 mg/g. Pinela *et al.* (2012) compararam o conteúdo de licopeno de quatro variedades de tomate cultivadas em Portugal (Bragança), usando na extração uma mistura de acetona/hexano (4:6) e análise espectrofotométrica, e obtiveram um valor de 0,0949 mg/g para o teor de licopeno no tomate *redondo*, inferior ao obtido neste estudo (0,165 mg/g).

De uma forma geral, pode-se constatar que os teores de licopeno publicados nos diversos artigos acima referenciados são globalmente inferiores aos obtidos no âmbito desta tese, com exceção do valor referido por Gama *et al.* (2006), que é consideravelmente mais elevado. Esta diferença de resultados poderá dever-se à origem dos frutos e à diversidade das condições envolvidas nas análises.

Comparando as figuras 13 e 14, verifica-se que as três variedades de tomate comum (*chucha*, *rama* e *redondo*) possuem teores de licopeno mais elevados que os de β -caroteno. O conteúdo em licopeno é um parâmetro importante na avaliação do tomate como alimento funcional, uma vez que este pigmento, pela sua atividade antioxidante, supressão da proliferação celular e interferência no crescimento de células cancerígenas, desempenha um papel importante na prevenção de doenças, como tumores, nomeadamente cancro da próstata, doença arterial coronária e doenças degenerativas (Dumas *et al.*, 2003; Viuda-Martos *et al.*, 2014).

CAPÍTULO VI. CONCLUSÃO

A pesquisa bibliográfica efetuada permitiu concluir que o tomate é um alimento funcional com inúmeros benefícios para a saúde. Os estudos realizados nos últimos anos comprovam que existe uma estreita relação entre o consumo de tomate e a prevenção de doenças crónicas não transmissíveis, como cardiovasculares e cancro, nomeadamente o cancro da próstata, devendo-se isto, principalmente, à presença de compostos com atividade antioxidante na constituição deste fruto. Entre os compostos presentes no tomate com atividade antioxidante, encontram-se os carotenoides (licopeno e β -caroteno), vitamina C e E, ácidos fenólicos, flavonoides e clorofilas *a* e *b*.

As células produzem espécies reativas de oxigénio, como o peróxido de oxigénio e o ácido hipocloroso, e radicais livres, como o radical hidroxilo e o anião superóxido, que podem causar danos celulares. Os radicais livres (agentes oxidantes) são moléculas que, por não possuírem um número par de eletrões na última camada eletrónica, são altamente instáveis e, portanto, estão sempre a procurar a estabilidade através de reações químicas de transferência de eletrões (oxidação-redução) com células vizinhas. Os antioxidantes, endógenos ou exógenos, evitam a oxidação de componentes celulares como ADN, proteínas e lípidos, prevenindo o aparecimento de doenças degenerativas e evitando a mutagénese e a carcinogénese.

Neste estudo, realizou-se uma comparação entre dois grupos de variedades de tomate, variedades comuns e variedades híbridas, comercializadas no mercado nacional, quanto ao teor de clorofila *a* e *b*, β -caroteno e licopeno. A grande diversidade de variedades híbridas existentes atualmente no mercado tem um propósito essencialmente comercial, dado que são mais apelativos, devido às suas características de tamanho, forma, cor, textura e sabor, mas algumas delas podem ser também uma mais-valia pelos benefícios que trazem para a saúde, na medida em que possuem teores de carotenoides mais elevados.

De facto, este estudo comprovou que a maior parte das variedades híbridas têm maior quantidade de β -caroteno, e que alguns dos tomates híbridos contêm maior teor de licopeno que as variedades comuns. Sendo estes carotenoides caracterizados por

possuírem atividade antioxidante e, portanto, diversos benefícios para a saúde, parece importante e vantajoso que a agricultura continue a apostar na criação e desenvolvimento de novos híbridos.

De uma forma geral, os teores de carotenoides (β -caroteno e licopeno) obtidos para as variedades híbridas são superiores aos obtidos por outros autores, assim como os valores das clorofilas das variedades que o método permitiu detetar. Há uma grande diversidade de fatores que podem justificar estas diferenças de teores, destacando-se a origem do fruto, as condições edafo-climáticas, os métodos de extração e de determinação.

CAPÍTULO VII. BIBLIOGRAFIA

Antioxidantes naturais - vegetais, frutas, ervas, especiarias e chás. Aditivos & Ingredientes. [Em linha]. Disponível em <www.insumos.com.br/aditivos_e_ingredientes/materias/129.pdf>. [Consultado em 15/03/2016].

Bai, Y. e Lindhout, P. (2007). Domestication and breeding of tomatoes: what have gained and what can we gain in the future? *Annals of Botany*, 100, pp. 1085-1094.

Barba, A. I. O. *et al.* (2006). Application Of UV-Vis detection–HPLC method for a rapid determination of lycopene and β -carotene in vegetables. *Food Chemistry*, 95, pp. 328-336.

Barros, L. *et al.* (2012). Characterization and quantification of phenolic compounds in four tomato (*Lycopersicon esculentum* L.) farmers' varieties in northeastern Portugal homegardens. *Plant Food for Human Nutrition*, 67(3), pp. 229-234.

Bergougnoux, V. (2014). The history of tomato: From domestication to biopharming. *Biotechnology Advances*, 32, pp. 170-189.

Bohn, T. *et al.* (2013). Bioavailability of phytochemical constituents from a novel soy fortified lycopene rich tomato juice developed for targeted cancer prevention trials. *Nutrition and cancer*, 65(6), pp. 1-20.

Boon, C. S. *et al.* (2010). Factors influencing the chemical stability of carotenoids in foods. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 50(6), pp. 515-532.

Cheung, L. M., Cheung, P. C. K. e Ooi, V. E. C. (2003). Antioxidant activity and total phenolics of edible mushroom extracts. *Food Chemistry*, 81, pp. 249-255.

Collins, J. K. e Perkins-Veazie, P. (2006). Lycopene: From plants to humans. *HortScience*, 41(5), pp. 1135-1145.

Costache, M. A., Campeau, G. e Neata, G. (2012). Studies concerning the extraction of chlorophyll and total carotenoids from vegetables. *Romanian Biotechnological Letters*, 17(5), pp. 7702-7708.

Demiray, E., Tulek, Y. e Yilmaz, Y. (2013). Degradation kinetics of lycopene, β -carotene and ascorbic acid in tomatoes during hot air drying. *LWT – Food Science and Technology*, 50, pp. 172-176.

D'Evoli, L., Lombardi-Boccia, G e Lucarini, M. (2013). Influence of heat treatments on carotenoid content of Cherry Tomatoes. *Foods*, 2, pp. 352-363.

Donhowe, E. G. et al. (2014). Characterization and in vitro bioavailability of β -carotene: effects of microencapsulation method and food matrix. *LWT – Food Science and Technology*, 57(1), pp. 42-48.

Du, J., Cullen, J. J. e Buettner, G. R. (2012). Ascorbic acid: chemistry, biology and the treatment of cancer. *Biochimica et Biophysica Acta*, 1826, pp. 443-457.

Dumas, Y. et al. (2003). Effects of environmental factors and agricultural techniques on antioxidant content of tomatoes. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 83, pp. 369-382.

Engelmann, N. J., Clinton, S. K. e Erdman Jr, J. W. (2011). Nutritional aspects of phytoene and phytofluene carotenoid precursors to lycopene. *Advances in Nutrition*, 2, pp.51-61.

Faurobert, M. et al. (2007). Major proteome variations associated with cherry tomato pericarp development and ripening. *Plant Physiology*, 143, pp. 1327-1346.

Figueiredo, A. (2013). Capacidade de combinação e divergência genética de linhagens de tomateiro com aptidão industrial. Guarapuava, Universidade Estadual do Centro Oeste – Unicentro.

Frusciante, L. et al. (2007). Antioxidant nutritional quality of tomato. *Molecular Nutrition Food Research*, 51, pp. 609-617.

Gallie, D. R. (2013). The role of L-ascorbic acid recycling in responding to environmental stress and in promoting plant growth. *Journal of Experimental Botany*, 64(2), pp. 433-443.

Gama, J. J., Tadiotti, A. C. e Sylos, C. M. (2006). Comparation of carotenoid contente in tomato, tomate pulp and ketchup by liquid chromatography. *Alimentos e Nutrição Araraquara*, 17(4), pp. 353-358.

García-Valverde, V. *et al.* (2013). Antioxidant bioactive compounds in selected industrial processing and fresh consumption tomato cultivars. *Food Bioprocess Technology*, 6, pp. 391-402.

George, B. *et al.* (2004). Antioxidants in tomato (*Lycopersium esculentum*) as a function of genotype. *Food Chemistry*, 84, pp. 45-51.

Grune, T. *et al.* (2010). β -carotene is an important vitamin A source for humans. *The Journal of Nutrition*, 140(12), pp. 2268S-2285S.

Gul, K. *et al.* (2015). Chemistry, encapsulation, and health benefits of β -carotene – A review. *Cogent Food & Agriculture*, 1, pp. 1-12.

Gülçin, I. (2012). Antioxidant activity of food constituents: an overview. *Archives of Toxicology*, 86, pp. 345-391.

Hazewindus, M. *et al.* (2012). The anti-inflammatory effect of lycopene complements the antioxidant action of ascorbic acid and α -tocopherol. *Food Chemistry*, 132, pp. 954-958.

Heleno, S. A. *et al.* (2015). Bioactivity of phenolic acids: metabolites *versus* parent compounds: a review. *Food Chemistry*, 173, pp. 501-513.

(Híbridos em espécies autógamas. [Em linha]. Disponível em <docs13.abelhas.pt/207784467,PT,0,0,capitulo-9.pdf>. [Consultado em 01/06/2016].

Iglesias, M. J. *et al.* (2014). Effect of genetic and phenotypic factors on the composition of commercial marmande type tomatoes studied through HRMAS NMR spectroscopy. *Food Chemistry*, 142, pp. 1-20.

Ilahy, R. *et al.* (2016). Fractionate analysis of the phytochemical composition and antioxidant activities in advanced breeding lines of high-lycopene tomatoes. *Food & Function*, 7, pp. 574-583.

Inanç, A. L. (2011). Chlorophyll: structural properties, health benefits and its occurrence in virgin olive oils. *Academic Food Journal*, 9(2), pp. 26-32.

Javanmardi, J. e Kubota, C. (2006). Variation of lycopene, antioxidant activity, total soluble solids and weight loss of tomato during postharvest storage. *Postharvest Biology and Technology*, 41, pp. 151-155.

Kaur, C. e Kapoor, H. C. (2002). Anti-oxidant activity and total phenolic content of some Asian Vegetables. *Journal of Food Science and Technology*, 37, pp. 153-161.

Kavitha, P. *et al.* (2014). Genotypic variability for antioxidant and quality parameters among tomato cultivars, hybrids cherry tomatoes and wild species. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 94, pp. 993-999.

Khoddami, A., Wilkes, M. A. e Roberts, T. H. (2013). Techniques for analysis of plant phenolic compounds. *Molecules*, 18, pp. 2328-2375.

Kizhedath, A. e Suneetha, V. (2011). Estimation of chlorophyll content in common household medicinal leaves and their utilization to avail health benefits of chlorophyll. *Journal of Pharmacy Research*, 4(5), pp. 1412-1413.

Kobori, C. N. *et al.* (2010). Teores de carotenoides em produtos de tomate. *Revista do Instituto Adolfo Lutz*, 69(1), pp. 78-83.

Kotíková, Z. *et al.* (2011). Determination of antioxidant activity and antioxidant content in tomato varieties and evaluation of mutual interactions between antioxidants. *LWT – Food Science and Technology*, 44, pp. 1703-1710.

Krumbein, A., Schwarz, D. e Kläring, H. (2006). Effects of environmental factors on carotenoid content in tomato (*Lycopersicon esculentum* L.) grown in a greenhouse. *Journal of Applied Botany and Food Quality*, 80, pp. 160-164.

Kumar, S. (2011). Free radicals and antioxidants: human and food system. *Advances in Applied Science Research*, 2(1), pp. 129-135.

Kumar, S. e Pandey A. k. (2013). Chemistry and biological activities of flavonoids: An overview. *The Scientife World Journal*, 2013, pp. 1-16.

- Kunwar, A. e Priyadarsini, K. I. (2011). Free radicals, oxidative stress and importance of antioxidants in human health. *Journal of Medical & Allied Sciences*, 1(2), pp.53-60.
- Kuti, J. e Konuru, H. (2005). Effects of genotype and cultivation environment on lycopene content in red-ripe tomatoes. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 85, pp. 2021-2026.
- Lam, R. *et al.* (2007). Antioxidant actions of phenolic compounds found in dietary plants on low-density lipoprotein and erythrocytes *in vitro*. *Journal of the American College of Nutrition*, 26(3), pp. 233–242.
- Lanfer-Marquez, U. M. (2003). O papel da clorofila na alimentação humana: uma revisão. *Revista Brasileira de Ciências Farmacêuticas*, 39(3), pp. 227-242.
- Lenucci, M. S. *et al.* (2006). Antioxidant composition in cherry and high-pigment tomato cultivars. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 54, pp. 2606-2613.
- Leonardi, C. *et al.* (2000). Antioxidative activity and carotenoid and tomatine contents in different typologies of fresh consumption tomatoes. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 48, pp. 4723-4727
- Li, H. *et al.* (2012). Microwave-assisted extraction of phenolics with maximal antioxidant activities in tomatoes. *Food Chemistry*, 130, pp. 928-936.
- Liu, L. *et al.* (2016). Role of continuous phase protein, (-) epigallocatechin-3-gallate and carrier oil on β -caroteno degradation in oil-in-water emulsions. *Food Chemistry*, 210, pp. 242-248.
- Lobo, V. *et al.* (2010). Free radicals, antioxidants and functional foods: Impact on human health. *Pharmacognosy Review*, 4(8), pp. 118-126.
- Llorente, B. *et al.* (2016). Tomato fruit carotenoid biosynthesis is adjusted to actual ripening progression by a light-dependent mechanism. *The Plant Journal*, 85(1), pp.107-119.
- Martínez-Valverde, I. *et al.* (2006). Phenolic compounds, lycopene and antioxidant activity in commercial varieties of tomato (*Lycopersisum esculentum*). *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 82, pp. 323-330.

- Mellidou, I. *et al.* (2012). Regulation of fruit ascorbic acid concentrations during ripening in high and low vitamin C tomato cultivars. *BMC Plant Biology*, 12, pp. 239-258.
- Méndez, I. *et al.* (2011). Quality of fruits in Mexican tomato (*Lycopersicon esculentum* Mill.) landraces. *Vitae, Revista De La Facultad de Química Farmacêutica*, 18, pp. 26-32.
- Mladenovic, J. *et al.* (2014). The biologically active (bioactive) compounds in tomato (*Lycopersicon esculentum* Mill.) as a function of genotype. *Bulgarian Journal of Agricultural Science*, 20 (4), pp. 877-882.
- Montonen, J. *et al.* (2004). Dietary Antioxidant Intake and Risk of Type 2 Diabetes. *Diabetes Care*, 27(2), pp. 362-366.
- Nagata M. e Yamashita I. (1992). Simple method for simultaneous determination of chlorophyll and carotenoids in tomato fruit. *J Jpn Soc Food Sci Nutr*, 39, pp. 925-928.
- Naika, S. *et al.* (2006). *A cultura do tomate – produção, processamento e comercialização*. Wageningen, Países Baixos, Barbara van Dam.
- Nesbitt, T. C. e Tanksley, S. D. (2002). Comparative sequencing in the genus *Lycopersicon*: Implications for the evolution of fruit size in the domestication of cultivated tomatoes. *The Genetics Society of America*, 162, pp. 365-379.
- Pala, F. S. e Gürkan, H. (2008). The role of free radicals in ethiopathogenesis of diseases. *Advance in Molecular Biology*, 1, pp. 1-9.
- Pandey, K. B. e Rizvi, S. I. (2009). Plant polyphenols as dietary antioxidant in human health and disease. *Oxidative Medicine and Cellular a Longevity*, 2(5), pp. 270-278.
- Paran, I. e Knaap, E. V. (2007). Genetic and molecular regulation of fruit and plant domestication traits in tomato and pepper. *Journal of Experimental Botany*, 58(14), pp. 3841-3852.

Periago, M. J. *et al.* (2004). Mixture approach for optimizing lycopene extraction from tomato and tomato products. *Journal of Agricultural Food Chemistry*, 52, pp. 5796-5802.

Perveen, R. *et al.* (2015). Tomato (*Solanum Lycopersicum*) carotenoids and lycopenes chemistry; metabolism, absorption, nutrition, and allied health claims-A comprehensive review. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 55 (7), pp. 919-929.

Peters, U. *et al.* (2008). Vitamin E and selenium supplementation and risk of prostate cancer in the Vitamins and lifestyle (VITAL) study cohort. *Cancer Causes Control*, 19, pp. 75-57.

Piazzon, A. *et al.* (2012). Antioxidant activity of phenolic acids and their metabolites: synthesis and antioxidant properties of the sulfate derivatives of ferulic and caffeic acids and of the acyl glucuronide of ferulic acid. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 60, pp. 12312-12323.

Pinela, J. *et al.* (2012). Nutritional composition and antioxidante activity of four tomate (*Lycopersicon esculentum* L.) farmer' varieties in nourtheastern Portugal homegardens. *Food and Chemical Toxicology*, 50, pp. 829-834.

Polder, G. *et al.* (2004). Measuring surface distribution of carotenes and chlorophyll in ripening tomatoes using imaging spectrometry. *Postharvest Biology and Technology*, 34, pp. 117-129.

Raffo, A. *et al.* (2002). Nutritional value of cherry tomatoes (*Lycopersicon esculentum* Cv. Naomi F1) harvested at different ripening stages. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 50, pp. 6550-6556.

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

Rahman, M. M., Khan, M. M. R. e Hosain, M. M. (2007). Analysis of vitamin C (ascorbic acid) contents in various fruits and vegetables by UV-spectrophotometry. *Bangladesh Journal of Scientific and Industrial Research*, 42(4), pp. 417-424.

Raiola, A. *et al.* (2014). Enhancing the health-promoting effects of tomato fruit for biofortified food. *Mediators of Inflammation*, 2014, pp. 1-16.

Raiola, A. *et al.* (2015). Vitamin E content and composition in tomato fruits: beneficial roles and bio-fortification. *International Journal of Molecular Sciences*, 16, pp. 29250-29264.

Rai, G. K. *et al.* (2014). Free radicals scavenging-antioxidant phytochemicals in cherry tomato (*Solanum Lycopersicon* var. *Ceresiforme* (Dunal) A. Gray). *Bangladesh Journal of Botany*, 43(3), pp. 255-260.

Rao, A. V. e Rao, L. G. (2007). Carotenoids and human health. *Pharmacological research*, 55, pp.207-216.

Rathore, G. S. *et al.* (2011). Nutritional antioxidants: A battle for better health. *Journal of Natural Pharmaceuticals*, 2(1), pp. 2-14.

Rizvi, S. *et al.* (2014). The role vitamin E in human health and some diseases. *SQU Medical Journal*, 14(2), pp. 157-165.

Rizzo, V. *et al.* (2015). Effects of processing on the polyphenol and phenolic content and antioxidant capacity of semi-dried cherry tomatoes (*Lycopersicon esculentum* M.). *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 96(6), *in press*.

Rodzericius, A. *et al.* (2009). Nutrition quality of different tomato cultivars. *Zemdirbyste-Agriculture*, 96(3), pp. 67-75.

Rousseaux, M. C. *et al.* (2005). QLT analysis of fruit antioxidants in tomato using *Lycopersicon pennellii* introgression lines. *Theoretical and Applied Genetics*, 111, pp. 1396-1408.

Saboori, S. *et al.* (2015). Effect of vitamin E supplementation on serum C-reactive protein level: a meta-analysis of randomized controlled trials. *European Journal of Clinical Nutrition*, 69, pp 867-873.

Sahlin, E., Savage, G. P. e Lister, C. E. (2004). Investigation of the antioxidant properties of tomatoes after processing. *Journal Food Composition And Analysis*, 17, pp. 635-647.

Salman, H. *et al.* (2007). Lycopene affects proliferation and apoptosis of four malignant cell lines. *Biomedicine & Pharmacotherapy*, 61(6), pp. 366-369.

Schiavon, M. *et al.* (2013). Selenium fertilization alters the chemical composition and antioxidant constituents of tomato (*Solanum Lycopersicon* L.). *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 61, pp. 10542-10554.

Shahzad, T. *et al.* (2014). DPPH free radical scavenging activity of tomato, cherry tomato and watermelon: lycopene extraction, purification and quantification. *International Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences*, 6(2), pp. 223-228.

Shishehbore, M. R. e Aghamiri, Z. (2014). A highly sensitive Kinetic spectrophotometric method for the determination of ascorbic acid in pharmaceutical samples. *Iranian Journal of Pharmaceutical Research*, 13(2), pp. 373-382.

Slavin, J. L. e Lloyd, B. (2012). Health benefits of fruits and vegetables. *Advances in Nutrition*, 3, pp. 506-516.

Sommer, A. e Vyas, K. S. (2012). A global clinical view on vitamin A and carotenoids. *The American Journal of Clinical Nutrition*, 96, pp. 1204S-1206S.

Stahl, W. e Sies, H. (2003). Antioxidant activity of carotenoids. *Molecular Aspects of Medicine*, 24, pp. 345-351.

Streit, N. M. *et al.* (2005). As clorofilas. *Ciência Rural*, 35(3), pp.748-755.

Tabart, J. *et al.* (2009). Comparative antioxidant capacities of phenolic compounds measured by various tests. *Food Chemistry*, 113(4), pp. 1226-1233.

Thorat, I. D. *et al.* (2013). Antioxidants, their properties, uses in food products and their legal implications. *International Journal of Food Studies*, 2, pp.81-104.

Toor, R. K. e Savage G. P. (2006). Effect of semi-drying on the antioxidant components of tomatoes. *Food Chemistry*, 94, pp. 90-97.

Valko, M. *et al.* (2007). Free radicals and antioxidants in normal physiological functions human disease. *International Journal of Biochemistry & Cell Biology*, 39, pp. 44-84.

Vinha, A. F. *et al.* (2014a). Organic versus conventional tomatoes: influence on physicochemical parameters, bioactive compounds and sensorial attributes. *Food Chemical Toxicology*, 67, pp. 139-144.

Vinha, A. F. *et al.* (2014b). Effect of peel and seed removal on the nutritional value and antioxidant activity of tomato (*Lycopersicon esculentum* L.) fruits. *LWT – Food Science Technology*, 55, pp. 197-202.

Vinha, A. F. *et al.* (2015). Impact of boiling on phytochemicals and antioxidant activity of green vegetables consumed in the Mediterranean diet. *Food Function*, 6, pp. 1157–1163.

Viuda-Martos, M. *et al.* (2014). Tomato and tomato by products. Human health benefits of lycopene and its application to meat products: a review. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 54(8), pp. 1032-1049.

Vivek, P., Prabhakaram, S. e Shankar, S. R. (2013). Assessment of nutritional value in selected edible greens based on the chlorophyll content in leaves. *Research in Plant Biology*, 3(5), pp. 45-49.

Williams, C. A. e Grayer, R. J. (2004). Anthocyanins and other flavonoids. *Natural Product Reports*, 18, pp. 539-573.