



**UNIVERSIDADE FEDERAL DO CEARÁ**  
**CENTRO DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS**  
**DEPARTAMENTO DE FITOTECNIA**  
**CURSO DE PÓS-GRADUAÇÃO EM AGRONOMIA/FITOTECNIA**

**ALEX GUIMARÃES SANCHES**

**INFLUÊNCIA DA LUZ PULSADA SOBRE A HISTOLOGIA, METABOLISMO DE  
VITAMINA C E COMPOSTOS FENÓLICOS NO ARMAZENAMENTO DE  
ACEROLAS**

**FORTALEZA**

**2018**

ALEX GUIMARÃES SANCHES

INFLUÊNCIA DA LUZ PULSADA SOBRE A HISTOLOGIA, METABOLISMO DE  
VITAMINA C E COMPOSTOS FENÓLICOS NO ARMAZENAMENTO DE ACEROLAS

Dissertação submetida à coordenação do Programa de Pós-graduação em Agronomia/Fitotecnia da Universidade Federal do Ceará, como requisito parcial para obtenção do título de Mestre em Agronomia/Fitotecnia. Área de concentração: Fisiologia, Bioquímica e Biotecnologia Vegetal.

Orientadora: Profa. Dra. Maria Raquel Alcântara de Miranda.

Coorientador: Dr. Carlos Farley Herbster Moura.

FORTALEZA

2018

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação  
Universidade Federal do Ceará  
Biblioteca Universitária

Gerada automaticamente pelo módulo Catalog, mediante os dados fornecidos pelo(a) autor(a)

---

- S19i Sanches, Alex Guimarães.  
Influência da luz pulsada sobre a histologia, metabolismo de vitamina C e compostos fenólicos no armazenamento de acerolas / Alex Guimarães Sanches. – 2018.  
67 f. : il. color.
- Dissertação (mestrado) – Universidade Federal do Ceará, Centro de Ciências Agrárias, Programa de Pós-Graduação em Agronomia (Fitotecnia), Fortaleza, 2018.  
Orientação: Prof. Dr. Maria Raquel Alcântara de Miranda.  
Coorientação: Prof. Dr. Carlos Farley Herbster Moura.
1. Malpighia emarginata DC. 2. Ácido ascórbico. 3. Estresse abiótico. 4. Pós-colheita. 5. Radiação. I. Título.  
CDD 630
-

ALEX GUIMARÃES SANCHES

INFLUÊNCIA DA LUZ PULSADA SOBRE A HISTOLOGIA, METABOLISMO DE  
VITAMINA C E COMPOSTOS FENÓLICOS NO ARMAZENAMENTO DE ACEROLAS

Dissertação submetida à coordenação do Programa de Pós-graduação em Agronomia/Fitotecnia da Universidade Federal do Ceará, como requisito parcial para obtenção do título de Mestre em Agronomia/Fitotecnia. Área de concentração: Fisiologia, Bioquímica e Biotecnologia Vegetal.

Aprovada em: 30/07/2018

BANCA EXAMINADORA:

---

Prof. Dra. Maria Raquel Alcântara de Miranda - Orientadora  
Universidade Federal do Ceará - UFC

---

Dr. Carlos Farley Herbster Moura - Coorientador  
Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária – EMBRAPA/Agroindústria Tropical

---

Dra. Mônica Maria de Almeida Lopes - Examinadora  
Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária – EMBRAPA/Agroindústria Tropical

A Deus.

Aos meus pais, irmãos e sobrinha

A todos os professores que passaram pela  
minha trajetória até aqui.

DEDICO

## AGRADECIMENTOS

Deus em primeiro lugar, que concedeu mais esta vitória em minha vida profissional.

Aos meus pais, Armando e Dilma que sempre me apoiaram nas minhas decisões profissionais e acadêmicas.

Aos meus irmãos Bruno e Danilo e minha sobrinha Maria Rafaella, pelo carinho, confiança e incentivo.

Aos amigos Raphael, Lilian e seu "Tchan" que foram presentes de Deus na minha vida em Fortaleza.

Aos colegas do mestrado, Clark, Jamille, Halina, Josiane, Poliana, Jéssica e Neurilan, pela ótima convivência e solidariedade durante o curso.

Aos colegas do Laboratório de Bioquímica e Fisiologia Pós-colheita de Frutos – LABFRUTOS, em especial a Amanda e Jadilson, pelas boas conversas e pela valiosa ajuda durante o desenvolvimento experimental desse trabalho.

A Prof<sup>ª</sup>. Dr<sup>ª</sup>. Maria Izabel Gallão e a Bióloga Andreza, pela ótima recepção e contribuições para realização de parte desta pesquisa.

A Prof<sup>ª</sup>. Dr<sup>ª</sup>. Maria Raquel Alcântara de Miranda, pela orientação e exemplo de profissional, contribuindo para o meu crescimento profissional e intelectual.

Ao Dr. Carlos Farley Herbster Moura, pela coorientação e confiança.

Ao CNPq, pelo apoio financeiro com a manutenção da bolsa de auxílio.

À Universidade Federal do Ceará, em especial ao Departamento de Fitotecnia pela oportunidade concedida. Aos professores que fazem parte do Programa de Pós-graduação em Agronomia/Fitotecnia pela contribuição na minha formação profissional.

Ainda que a minha mente e o meu corpo enfraqueçam, Deus é minha força. Ele é tudo o que eu preciso.

Salmo 73:26

## RESUMO

A acerola é um fruto tropical reconhecido por seu elevado conteúdo de compostos bioativos com destaque para a vitamina C e os compostos fenólicos, contudo, a alta perecibilidade após a colheita requer técnicas de conservação que permitam o aumento ou a manutenção desses compostos durante o período de armazenamento. Nesse contexto, a luz pulsada (LP) apresenta-se como uma tecnologia pós-colheita utilizada como estressor abiótico capaz de preservar/aumentar a qualidade nutricional de frutos e hortaliças através do aumento de fitoquímicos. Assim, o presente estudo teve por objetivo investigar os efeitos da aplicação pós-colheita de LP ( $0,6 \text{ J.cm}^{-2}$ ) sobre a estrutura e fisiologia de acerolas 'Okinawa' durante o armazenamento refrigerado ( $10 \text{ }^\circ\text{C}$ ). A cada período de armazenamento (0,1, 4, 10 e 16 dias) avaliou-se: o conteúdo de vitamina C total, reduzida (AsA) e oxidada (DHA), atividade enzimática da desidrogenase da L-galactona-1,4-lactona (GalLDH), ascorbato oxidase (AO), peroxidase do ascorbato (APX), monodehidroascorbato redutase (MDHAR), dehidroascorbato redutase (DHAR) e glutatona redutase (GR). O conteúdo de polifenóis extraíveis totais, flavonoides amarelos, antocianinas monoméricas, atividade da fenilalanina amônia liase (PAL), polifenoloxidase (PPO) e a análise microscópica para avaliar a influência do tratamento sobre a histologia dos tecidos também foram investigados. De modo geral, o tratamento com LP reduziu o nível de oxidação do ácido ascórbico através de uma menor atividade da ascorbato oxidase (AO) e estimulou a atuação das enzimas de reciclagem (MDHAR e DHAR) resultando em uma maior concentração de vitamina C total e de AsA reduzido ao final de 16 dias. O conteúdo de flavonoides amarelos e antocianinas monoméricas não diferiu ( $p > 0,05$ ) entre os tratamentos, no entanto, os polifenóis extraíveis totais foram significativamente preservados nas acerolas tratadas com LP em virtude de uma maior atividade da PAL e inibição na atividade oxidativa da PPO. O estudo histológico mostrou que a LP preservou a integridade das células do epicarpo e mesocarpo dos frutos com o tempo de armazenamento. Esses resultados sugerem que a LP ( $0,6 \text{ J.cm}^{-2}$ ) pode ser utilizada como tratamento pós-colheita para preservar o conteúdo de vitamina C e de compostos através de alterações no metabolismo de síntese e degradação desses compostos.

**Palavras-chave:** *Malpighia emarginata* DC. Ácido ascórbico. Estresse abiótico. Pós-colheita. Radiação.



## ABSTRACT

Acerola is a tropical fruit recognized for its high content of bioactive compounds with emphasis on vitamin C and phenolic compounds, however, high perishability after harvesting requires conservation techniques that allow the increase or maintenance of these compounds during the period of storage. In this context, pulsed light (PL) presents as a postharvest technology used as an abiotic stressor capable of preserving / increasing the nutritional quality of fruits and vegetables through the increase of phytochemicals. Thus, the present study aimed to investigate the effects of post-harvest application of PL ( $0.6 \text{ J.cm}^{-2}$ ) on the structure and physiology of 'Okinawa' acerola during refrigerated storage ( $10 \text{ }^{\circ}\text{C}$ ). Each storage period (0, 1, 4, 10 and 16 days) was evaluated: total vitamin C content, reduced (AsA) and oxidized (DHA), the enzymatic activity of L-galactone-1,4-lactone dehydrogenase (GalLDH), ascorbate oxidase (AO), ascorbate peroxidase (APX), monodehydroascorbate reductase (MDHAR), dehydroascorbate reductase (DHAR) and glutathione reductase (GR). The content of total phenolic compounds, yellow flavonoids, monomeric anthocyanins, phenylalanine ammonia lyase (PAL), polyphenoloxidase (PPO) activity and microscopic analysis to assess the influence of treatment on tissue histology were also investigated. In general, PL treatment reduced the level of ascorbic acid oxidation through reduced ascorbate oxidase (AO) activity and stimulated the performance of the recycling enzymes (MDHAR and DHAR) resulting in a higher concentration of total vitamin C and of AsA reduced at the end of 16 days. The content of yellow flavonoids and monomeric anthocyanins did not differ ( $p>0.05$ ) between treatments, however, total phenolic compounds were significantly preserved in PL treated fruits because of a higher activity of PAL and inhibition of oxidative activity of PPO. The histological study showed that PL preserved the integrity of the epicarp and mesocarp cells of the fruits with storage time. These results suggest that PL ( $0.6 \text{ J.cm}^{-2}$ ) can be used as a postharvest treatment to preserve the content of vitamin C and phenolic compounds through changes in the metabolism of synthesis and degradation of these compounds.

**Keywords:** *Malpighia emarginata* DC. Ascorbic acid. Abiotic stress. Postharvest. Radiation.

## LISTA DE FIGURAS

Figura 1 -	Representação esquemática de um sistema de luz pulsada de bancada...	18
Figura 2 -	Fórmula estrutural dos ácidos L-ascórbico e L-dehidroascórbico.....	21
Figura 3 -	Via da L-galactose ou Smirnoff-Wheeler de biossíntese do ácido L-ascórbico.....	22
Figura 4 -	Representação esquemática da degradação e reciclagem do ácido L-ascórbico.....	23
Figura 5 -	Biossíntese de compostos fenólicos a partir da fenilalanina.....	26
Figura 6 -	Reação catalisada pela polifenoloxidase.....	28
Figura 7 -	Equipamento de luz pulsada utilizado no estudo.....	29
Figura 8 -	Acerolas ‘Okinawa’ tratadas com luz pulsada ( $0,6 \text{ J.cm}^{-2}$ ) e armazenadas sob refrigeração ( $10 \text{ }^{\circ}\text{C}$ ) por 16 dias.....	30
Figura 9 -	Conteúdo de vitamina C total (A), ácido ascórbico (AsA, B) e dehidroascórbico (DHA, C) em acerolas ‘Okinawa’ tratadas com luz pulsada ( $0,6 \text{ J.cm}^{-2}$ ) e armazenadas sob refrigeração ( $10 \text{ }^{\circ}\text{C}$ ) por 16 dias. *Representa uma diferença significativa entre os tratamentos dentro de cada tempo de armazenamento, $p < 0,05$ .....	39
Figura 10 -	Atividade da desidrogenase da L-galactona-1,4-lactona (GalLDH) em acerolas ‘Okinawa’ tratadas com luz pulsada ( $0,6 \text{ J.cm}^{-2}$ ) e armazenadas sob refrigeração ( $10 \text{ }^{\circ}\text{C}$ ) por 16 dias. *Representa uma diferença significativa entre os tratamentos dentro de cada tempo de armazenamento, $p < 0,05$ .....	41
Figura 11 -	Atividade da ascorbato oxidase, AO (A) e da peroxidase do ascorbato, APX (B) em acerolas ‘Okinawa’ tratadas com luz pulsada ( $0,6 \text{ J.cm}^{-2}$ ) e armazenadas sob refrigeração ( $10 \text{ }^{\circ}\text{C}$ ) por 16 dias. *Representa uma diferença significativa entre os tratamentos dentro de cada tempo de armazenamento, $p < 0,05$ .....	42
Figura 12 -	Atividade da monodehidroascorbato redutase (MDHAR, A), dehidroascorbato redutase (DHAR, B) e glutathione redutase (GR, C) em acerolas ‘Okinawa’ tratadas com luz pulsada ( $0,6 \text{ J.cm}^{-2}$ ) e armazenadas sob refrigeração ( $10 \text{ }^{\circ}\text{C}$ ) por 16 dias. *Representa uma	

	diferença significativa entre os tratamentos dentro de cada tempo de armazenamento, $p < 0,05$ .....	44
Figura 13 -	Conteúdo de polifenóis extraíveis totais (A), flavonoides amarelos (B) e antocianinas monoméricas (C) em acerolas ‘Okinawa’ tratadas com luz pulsada ( $0,6 \text{ J.cm}^{-2}$ ) e armazenadas sob refrigeração ( $10 \text{ }^\circ\text{C}$ ) por 16 dias. *Representa uma diferença significativa entre os tratamentos dentro de cada tempo de armazenamento, $p < 0,05$ .....	47
Figura 14 -	Atividade da fenilalanina amônia liase (PAL) em acerolas ‘Okinawa’ tratadas com luz pulsada ( $0,6 \text{ J.cm}^{-2}$ ) e armazenadas sob refrigeração ( $10 \text{ }^\circ\text{C}$ ) por 16 dias. *Representa uma diferença significativa entre os tratamentos dentro de cada tempo de armazenamento, $p < 0,05$ .....	49
Figura 15 -	Atividade da polifenoloxidase (PPO) em acerolas ‘Okinawa’ tratadas com luz pulsada ( $0,6 \text{ J.cm}^{-2}$ ) e armazenadas sob refrigeração ( $10 \text{ }^\circ\text{C}$ ) por 16 dias. *Representa uma diferença significativa entre os tratamentos dentro de cada tempo de armazenamento, $p < 0,05$ .....	50
Figura 16 -	Histologia de acerolas ‘Okinawa’ armazenadas sob refrigeração ( $10 \text{ }^\circ\text{C}$ ) e coradas com azul de Toluidina aos A) 0; B) 1; C) 4; D) 10 e E) 16 dias para os frutos controle e F) 0; G) 1; H) 4; I) 10 e J) 16 dias para os frutos tratados com LP ( $0,6 \text{ J.cm}^{-2}$ ). Epicarpo (EP); → (parede celular). Barra: 200 $\mu\text{m}$ .....	52
Figura 17 -	Esquema proposto para explicar o mecanismo de ação da LP sobre o metabolismo da vitamina C e de compostos fenólicos durante o armazenamento refrigerado ( $10 \text{ }^\circ\text{C}$ ) de acerola ‘Okinawa’.....	53

## LISTA DE ABREVIATURA E SIGLAS

AsA	Ácido ascórbico
APX	Peroxidase do ascorbato
AO	Ascorbato oxidase
B.O.D	<i>Biochemical oxygen demand</i>
CEASA	Central Estadual de Abastecimento
DHA	Dehidroascorbato
DHAR	Dehidroascorbato redutase
EROs	Espécie reativa de oxigênio
FDA	Food and drug administration
GalDH	L-galactose desidrogenase
GalLDH	Desidrogenase da L-galactona-1,4-lactona
GR	Glutathiona redutase
GSH	Glutathiona reduzida
GSSG	Glutathiona oxidada
L-Gal	L-galactose
LP	Luz pulsada
NADH	Dinucleótido de nicotinamida e adenina
NADPH	Nicotinamida adenina dinucleótido fosfato
PAL	Fenilalanina amônia liase
PET	Polifenóis extraíveis totais
PPO	Polifenoloxidase
UV-C	Luz ultravioleta C

## SUMÁRIO

<b>1</b>	<b>INTRODUÇÃO.....</b>	<b>13</b>
<b>2</b>	<b>REVISÃO DE LITERATURA.....</b>	<b>15</b>
<b>3</b>	<b>MATERIAIS E MÉTODOS.....</b>	<b>29</b>
<b>4</b>	<b>RESULTADOS E DISCUSSÃO.....</b>	<b>38</b>
<b>5</b>	<b>CONCLUSÕES.....</b>	<b>53</b>
	<b>REFERÊNCIAS.....</b>	<b>54</b>

## 1 INTRODUÇÃO

A acerola (*Malpighia emarginata* DC) é um fruto tropical conhecido por sua elevada concentração de compostos bioativos como vitamina C e fenólicos (RITZINGER e RITZINGER, 2011). Além disso, possui sabor e textura agradáveis tornando-a um produto de grande aceitação no mercado (CAETANO, DAIUTO e VIEITES, 2012).

Todavia, após a colheita, a acerola é um fruto muito perecível com vida útil de 2 a 4 dias em temperatura ambiente devido a intensa perda de água que leva a redução de suas características nutricionais rapidamente. O padrão climatérico de amadurecimento é considerado o principal fator de sua acelerada senescência pós-colheita (VENDRAMINI e TRUGO, 2000; CARRINGTON e KING, 2002; MOHAMMED, 2011). Nesse sentido, fica evidente a necessidade de tecnologias que permitam a manutenção de sua qualidade com redução das perdas nutricionais durante o armazenamento, possibilitando assim, o aumento do tempo de comercialização.

Dentre as tecnologias pós-colheita, a radiação se destaca pela eficiência na descontaminação superficial de alimentos em geral visando a segurança alimentar (KOUTCHMA *et al.*, 2009), e atualmente tem sido bastante utilizada para indução de estresse com a finalidade de estimular a biossíntese de compostos bioativos de defesa nos vegetais (SHAMA e ALDERSON, 2005; GONZÁLEZ-AGUILAR *et al.*, 2010; KHADEMI *et al.*, 2013).

Nesse contexto, a luz pulsada (LP) surge como uma versão mais moderna da radiação por se tratar de uma tecnologia não térmica que utiliza pulsos luminosos de alta intensidade, mas de curta duração (1  $\mu$ s a 0,1 s) e com um amplo espectro de ondas de luz (200-1100 nm) emitida através de lâmpadas de xenônio (DUNNET *et al.*, 1995; PATARO *et al.*, 2015; BHAVYA e HEBBAR, 2017). De acordo com Rodovet *et al.* (2012), o grande poder de emissão e de penetração da LP, quando comparado a radiação contínua (UV-C e UV-B), pode induzir estresse e estimular a produção de compostos bioativos com o objetivo de minimizar os danos causados pela radiação, nos tecidos vegetais. No entanto, seus efeitos variam conforme a cultivar, a dose e modo de aplicação, e do estágio de maturação do produto.

Na pós-colheita, a tecnologia da LP se mostrou eficiente em manter a firmeza, coloração e o conteúdo de carotenoides (CHARLES *et al.*, 2013), além de aumentar a capacidade antioxidante através do acúmulo de antocianinas, compostos fenólicos (XU e WU, 2016; LOPES *et al.*, 2016) e proporcionar maior acúmulo de vitamina C (KOH *et al.*, 2016).

Por outro lado, há relatos que a LP induziu um estresse e aumentou a atividade respiratória comprometendo o conteúdo de fitoquímicos (RAMOS-VILLARROEL *et al.*, 2011; AGUERO *et al.*, 2016).

Dessa forma, para se estabelecer as melhores condições de uso de uma tecnologia pós-colheita como a LP, torna-se fundamental investigar os efeitos que esta exerce sobre a fisiologia dos frutos. Portanto, o objetivo desse trabalho é estudar os efeitos da aplicação pós-colheita de luz pulsada sobre a estrutura e fisiologia de acerolas ‘Okinawa’ durante o armazenamento refrigerado 10 °C.

## 2 REVISÃO DE LITERATURA

### Origem e aspectos botânicos da aceroleira

A aceroleira (*Malpighia emarginata* DC) é uma planta com centro de origem nas ilhas do Caribe e das Antilhas e que se dispersou por todo o continente Americano devido à sua boa adaptação ao solo e clima (CARRINGTON e KING, 2002; MONTIM, OLIVEIRA e VIEIRA, 2010).

*Malpighia emarginata* DC é um arbusto perene de porte médio que pode atingir de 2 a 4 metros de altura, com tronco único e dossel ramificado e espalhado. As folhas são elítico-lanceoladas com coloração verde-escura e brilhante na superfície adaxial e verde-clara, na abaxial (OLIVEIRA; REINHARDT; SOARES FILHO, 2003; CALGARO e BRAGA, 2012). As flores são perfeitas com pedúnculo longo e coloração que varia entre rosa-esbranquiçada e vermelha, sendo dispostas em cachos de 3 a 5 flores nas axilas dos ramos em crescimento (SAZAN *et al.*, 2014).

Os frutos são drupas carnosas conhecidas pelos nomes como cereja das Antilhas, cereja de Barbados, cereja das Índias Ocidentais e acerola (MANICA *et al.*, 2003). A sua maturação ocorre 3 a 4 semanas após a floração quando apresentam tamanho entre 1 e 4 centímetros de diâmetro, forma oval ou subglobosa e peso entre 2 e 15 gramas (MOURA *et al.*, 2003; ERGUN *et al.*, 2014). O epicarpo representa uma película fina que quando maduro, pode variar de coloração entre amarelo, vermelho e roxo. O mesocarpo ou polpa tem coloração amarelada ou avermelhada e representa de 70 a 80% da massa total do fruto, enquanto o endocarpo tem textura pergaminácea e reveste três sementes conferindo ao fruto um formato trilobado (ALMEIDA, LOPES e OLIVEIRA, 2002; FREITAS *et al.*, 2006; LIMA *et al.*, 2014).

### Aspectos econômicos da cultura da aceroleira

Quando maduro, o fruto da aceroleira tem sabor que varia de levemente ácido a muito ácido sendo consumido fresco ou processado na forma de polpa, doces, sucos e sorvetes devido ao seu principal apelo comercial/nutricional que é o alto conteúdo de vitamina C (RITZINGER e RITZINGER, 2011; CAETANO *et al.*, 2012). No Brasil, a aceroleira é conhecida há mais de 60 anos, todavia somente a partir dos anos 80, começou a ser explorada de forma comercial (MOURA *et al.*, 2007; ADRIANO *et al.*, 2011), de modo que em 2012,



este se tornou o maior produtor, consumidor e exportador mundial com uma área de 7. 200 ha e produtividade média de 150 mil toneladas de frutos por ano e conteúdo de vitamina C acima de 10.000 mg.Kg<sup>-1</sup> de polpa (CALGARO e BRAGA, 2012).O Nordeste brasileiro é a região do país onde a aceroleira melhor se adaptou sendo responsável por aproximadamente 70% da produção total, estando entre os principais estados produtores, Pernambuco com 23,11%; seguido pelo Ceará, com 14,32%; São Paulo, com 11,39%; e Bahia, com 10,48%(CALGARO e BRAGA, 2012).

Nos pomares irrigados da Região do Submédio São Francisco, as principais cultivares plantadas são Costa Rica, Flor Branca, Okinawa e Sertaneja BRS 152. Dentre essas, a cultivar Okinawa se destaca pela vigorosidade da planta apresentando frutos grandes (5 a 9 gramas) com boa coloração e teor de vitamina C (>10.000 mg.Kg<sup>-1</sup> massa fresca (MF), além de se mostrar resistente a danos mecânicos (CALGARO e BRAGA, 2012).

### **Caracterização físico-química e bioquímica da acerola**

A constituição físico-química dos frutos da aceroleira é influenciada pela variabilidade genética, pelo estágio de maturação (FREITAS *et al.*, 2006; MACIEL *et al.*, 2010; NASSER e ZONTA, 2014) e, principalmente, pelas condições ambientais tais como precipitações pluviais, temperatura, altitude, adubação, irrigação e a ocorrência de pragas e doenças (MEZADRI *et al.*, 2006; FARIAS *et al.*, 2012).

Considerando a composição química do fruto maduro, cada 100 gramas apresenta 332 kcal de calorías atribuídas a carboidratos (57,24 g), lipídios (3,2 g) e proteínas (16,94 g) (DEMBITSKY *et al.*, 2011; MARQUES *et al.*, 2013). O pH varia de 2,90 a 3,70, acidez titulável de 0,70 a 1,87% de ácido málico e os sólidos solúveis entre 5 e 11 °Brix (SANTOS *et al.*, 2012; LIMA *et al.*, 2014; FACCHI *et al.*, 2016).De acordo com Mezdri *et al.* (2008), os principais açúcares são a frutose e a glicose e, em menor concentração, a sacarose. A acerola apresenta ainda vitaminas como tiamina (B1), riboflavina (B2), niacina (B3) e provitamina A, além de minerais como cálcio, ferro, potássio, magnésio, zinco e fósforo (ADRIANO *et al.*, 2011; MARQUES *et al.*, 2013).

No que se refere aos compostos aromáticos, Bicas *et al.* (2011) verificaram em acerolas maduras que os voláteis furfural, 3-metil-3-butenol, limoneno, ácido hexadecanoico são os constituintes principais. Em relação à fração lipídica, os ácidos graxos de maior predominância são: oléico (31,9%), linoléico (29,2%), palmítico (21,8%), esteárico (13,9%) e linolênico (1,3%) (MEDEIROS-AGUIAR *et al.*, 2010).

Dentre os compostos bioativos com ação antioxidante, os polifenóis totais variam entre 9.142 a 26.314 mg equivalentes de ácido gálico  $\text{EAG.Kg}^{-1}$  MF em frutos maduros(SOUZA *et al.*, 2014; MARIANO-NASSER *et al.*, 2017), tendo flavonoides, antocianinas, procianidinas, flavonóis e catequinas como os mais abundantes (DELVA e GOODRICH, 2010; BETAGLION *et al.*, 2015).Todavia, o principal constituinte com importância nutricional encontrado é a vitamina C com conteúdo que pode variar de 8.628 a 20.000  $\text{mg.Kg}^{-1}$  MF em frutos maduros(OLIVEIRA *et al.*, 2012; FIGUEIREDO NETO *et al.*, 2014; SOUZA *et al.*, 2014; MARIANO-NASSER *et al.*, 2017). Os antioxidantes são definidos como substâncias químicas presentes em baixas concentrações, comparados aos metabólitos primários das plantas, tais como proteínas, lipídeos e carboidratos; os quais atrasam ou impedem a oxidação de substratos (ARUOMA, 1999; ALAMED *et al.*, 2009).

### **Fisiologia pós-colheita de acerola**

O amadurecimento e a senescência da acerola são rápidos, o que dificulta o manuseio e o armazenamento após a colheita. Trata-se de um fruto perecível com vida útil limitada de 2 a 4 dias à temperatura ambiente (VENDRAMINI e TRUGO, 2000; SCALON *et al.*, 2004), devido principalmente ao seu padrão de maturação climatérica com uma alta taxa respiratória ( $900 \text{ mL de CO}_2.\text{kg}^{-1}.\text{h}^{-1}$ ), porém baixa produção de etileno ( $3 \text{ }\mu\text{L de C}_2\text{H}_4.\text{kg}^{-1}.\text{h}^{-1}$ ) (CARRINGTON e KING, 2002).Outro fator que contribui para perecibilidade é a película muito fina que o torna suscetível à lesões físicas, à perda de umidade e à injúrias pelo frio (MOHAMMED, 2011).

Assim, as tecnologias de conservação pós-colheita são empregadas para manter a qualidade dos frutos aumentando seu período de armazenamento. Como exemplo, o armazenamento de acerolas das cultivares Roxinha e Sertaneja sob refrigeração a  $10 \text{ }^\circ\text{C}$  foi capaz de manter a relação sólidos solúveis e acidez titulável e, portanto, o sabor dos frutos por até 12 dias (ARAÚJO *et al.*, 2009).A associação da refrigeração com outras tecnologias de conservação pós-colheita já foi empregada em acerolascomo o uso da atmosfera modificada (QUOC *et al.*, 2015), a aplicação do ácido salicílico que atua como agente elicitador permitindo maior resistência à infecção por patógenos durante o armazenamento (MAZARO *et al.*, 2015) e da utilização de fitormônios como o ácido giberélico capaz de retardar a senescência (SOUZA *et al.*, 2016). De maneira geral, essas tecnologias mostraram-se efetivas em preservar a qualidade dos frutos através da redução na perda de massa, na preservação da

firmeza, no controle da taxa respiratória, na manutenção da aparência visual e da cor, além de ativar rotas de síntese de compostos do metabolismo secundário como os fenólicos.

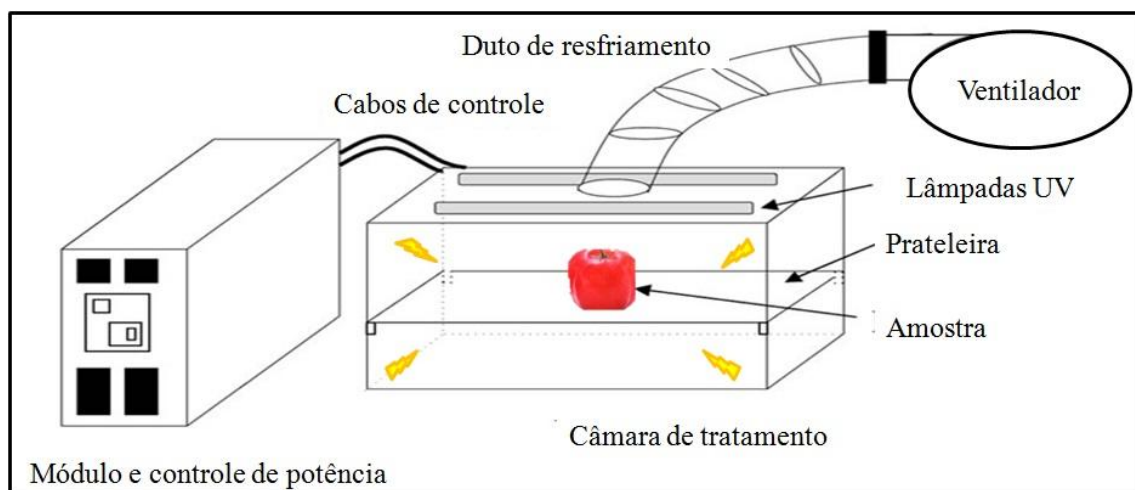
### Tecnologia da luz pulsada na pós-colheita

A luz pulsada (LP) é uma tecnologia não térmica que utiliza pulsos luminosos de alta intensidade e curta duração (1  $\mu$ s a 0,1 s) com um amplo espectro de radiação (200-1100 nm) que foi inicialmente usada na pós-colheita para descontaminação superficial de microrganismos em diversos produtos vegetais e equipamentos (DUNN *et al.*, 1995; BHAVYA e HEBBAR, 2017).

A energia eletromagnética da LP inclui um amplo espectro de comprimentos de onda, porém o espectro UV-C (200-280 nm) é o mais importante em termos de efeitos sobre organismos vivos (ELMNASSER *et al.*, 2007; PALGAN *et al.*, 2011; GÓMEZ *et al.*, 2012). Sua utilização para descontaminação de alimentos durante as etapas de manipulação e processamento foram aprovados pelo FDA (Food and Drug Administration) com dose cumulativa de até 12 J.cm<sup>-2</sup> (FDA, 1996; SAIKIRAN *et al.*, 2016).

O equipamento de LP apresenta constituintes comuns como um capacitor de energia (módulo) e uma câmara de tratamento (Figura 1) e se baseia em três fatores principais: poder de pulso, configuração do dispositivo de pulso e a lâmpada (ELMNASSER *et al.*, 2007; MAGED *et al.*, 2012).

Figura 1 - Representação esquemática de um equipamento de luz pulsada de bancada.



Fonte: Elmnasser *et al.*, 2007.

No equipamento de LP, a energia eletromagnética é estocada em um capacitor de alta potência em fração de segundos e então, é conduzida através de cabos elétricos até a câmara

de tratamento que formará impulsos para obter alta tensão de campo elétrico pulsado. A corrente elétrica pulsada é passada através das lâmpadas de flash inerte sendo aplicada nos mais diversos produtos. Um sistema de refrigeração interno garante que não haja superaquecimento da amostra (PAI e ZHANG, 1995; GREEN *et al.*, 2005, SAIKIRAN *et al.*, 2016).

Nesse sistema, a lâmpada de flash é o elemento mais importante, pois é responsável pela conversão de até 50% da energia elétrica em energia radiante pulsada e preenchida com um gás inerte como o xenônio ou criptônio (XENONCORP, 2005; ABIDA *et al.*, 2014). O xenônio (XE) é o preferido devido à sua maior eficiência de conversão e eficiência na inativação microbiana (ELMNASSER *et al.*, 2007; ABIDA *et al.*, 2014). De acordo com Saikiran *et al.* (2016), o mecanismo por trás da conversão de pulsos elétricos para pulsos de luz é que, a energia elétrica ao passar através das lâmpadas de flash contendo gás XE, excita os átomos de XE para níveis de energia mais elevados e ao voltar ao seu estado basal, eles liberam essa energia altamente concentrada sob a forma de pulsos em fração de segundos.

A aplicação de LP em alimentos depende da composição do produto a ser tratado, pois influenciará a sua absorção. Dentre os componentes celulares, os ácidos nucléicos, ácido ascórbico e proteínas que contêm pontes dissulfeto absorvem fortemente luz ultravioleta (UV) a 250 nm. Já os carboidratos são insensíveis à luz, mas na presença de fotossensibilizadores como sorbitol são fotooxidados a hexoses (KOUTCHMA *et al.*, 2009). A radiação no espectro do visível (400 a 700 nm) será absorvida, no tecido vegetal, devido aos cromóforos como carotenos, clorofilas e xantofilas. Na região do infravermelho próximo (NIR), a absorção é devida à água que apresenta um pico de absorção a 970 nm (COOPER *et al.*, 1996).

De modo geral, a aplicação da radiação na pós-colheita de frutos e hortaliças promove diferentes respostas como reações de fotooxidação que, através da produção de espécies reativas de oxigênio (EROs) estimulam mecanismos de defesa como a síntese de fitolalexinas (SHAMA e ALDERSON, 2005; GUERRERO *et al.*, 2010). Assim, o metabolismo secundário é ativado juntamente com o sistema antioxidante enzimático (GONZÁLEZ-AGUILAR *et al.*, 2010; WANG e FREI, 2011).

Estudos buscaram investigar os efeitos da luz pulsada sobre a qualidade e fisiologia durante o armazenamento pós-colheita de frutos e hortaliças. Um tratamento com LP na dose de  $8 \text{ J.cm}^{-2}$  manteve a cor, firmeza e o conteúdo de carotenoides em mangas 'Kent' minimamente processadas e armazenadas a  $6 \text{ }^{\circ}\text{C}$  durante 7 dias (CHARLES *et al.*, 2013). Já em tomates, tratamentos com LP entre 2 e  $8 \text{ J.cm}^{-2}$  aumentou o conteúdo de licopeno, de compostos fenólicos e a atividade antioxidante (PATARO *et al.*, 2015) e em framboesas, a

exposição por 30 segundos à  $5,0 \text{ J.cm}^{-2}$  de LP aumentou o conteúdo de antocianinas totais ao longo de cinco dias de armazenamento a  $4 \text{ }^\circ\text{C}$  (XU e WU, 2016).

A aplicação de quatro pulsos repetitivos de LP ( $2,80 \text{ J.cm}^{-2}$ ) foi eficaz em preservar e até aumentar a qualidade de mangas ‘Tommy Atkins’ minimamente processadas e armazenadas durante sete dias a  $6 \text{ }^\circ\text{C}$  por reduzir a perda de massa, manter a aparência visual, aumentar o conteúdo de carotenoides e a atividade antioxidante (LOPES *et al.*, 2017). Cenouras fatiadas e tratadas com  $2,26 \text{ J.cm}^{-2}$  de LP e armazenadas a  $8 \text{ }^\circ\text{C}$  por 14 dias, apresentaram um aumento no conteúdo de  $\beta$ -caroteno,  $\beta$ -glucose e nos níveis de poliactenos tais como: falcarindiol, falcarinol e falcarindiol-3-acetato, considerados benéficos para a saúde humana por sua ação anti-inflamatória (AGUILÓ-AGUAYO *et al.*, 2017).

Por outro lado, efeitos negativos também foram relatados como o tratamento com LP, a aplicação de  $12 \text{ J.cm}^{-2}$  causou escurecimento e perda de firmeza em abacates minimamente processados e armazenados a  $5 \text{ }^\circ\text{C}$  por 15 dias (RAMOS-VILLARROEL *et al.*, 2011). O tratamento de espinafre minimamente processado com LP de 2 a  $4 \text{ J.cm}^{-2}$  estimulou a taxa respiratória e influenciou negativamente a qualidade fitoquímica, ao final de 8 dias de armazenamento a  $5 \text{ }^\circ\text{C}$  (AGUERO *et al.*, 2016).

A influência do tratamento com LP sobre a estrutura dos produtos vegetais também foi investigada. Duarte-Molina *et al.* (2016) observaram através de microscopia eletrônica de varredura que a parede celular de morangos expostos a LP em fluências que variavam de 2 até  $47 \text{ J.cm}^{-2}$  apresentava-se mais íntegra após oito dias de armazenamento, do que em morangos não tratados que apresentavam células completamente colapsadas e achatadas. Lopes *et al.* (2016) concluíram que LP a  $0,6 \text{ J.cm}^{-2}$  não exerceu nenhum efeito na estrutura de mangas quando comparadas ao controle durante sete dias de armazenamento a  $20 \text{ }^\circ\text{C}$ , contudo os autores observaram um aumento de enzimas antioxidantes e de compostos não enzimáticos. Já, Koh *et al.* (2016) trataram melões ‘Cantaloupe’ minimamente processados com LP em uma dose única ( $11,7 \text{ J.cm}^{-2}$ ) e doses repetidas ( $0,9 \text{ J.cm}^{-2}$ ) e observaram que as amostras submetidas ao tratamento único tinham células mais danificadas, contraídas e deformadas do que as submetidas ao tratamento repetido após 28 dias de armazenamento a  $4 \text{ }^\circ\text{C}$ .

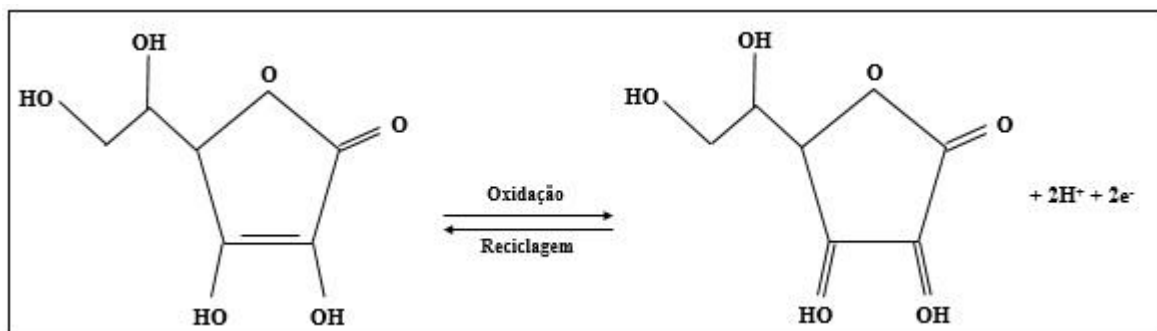
## Metabolismo de vitamina C

O ácido L-ascórbico ( $\text{C}_6\text{H}_8\text{O}_6$ , AsA) cujo nome químico é 2-oxi-L-treohexônio-1,4-lactona-2,3-enediol é um ácido orgânico de baixo peso molecular hidrossolúvel que é

fisiologicamente ativo por exercer um papel na regulação do potencial redox de células animais e vegetais devido seu poder antioxidante (SANMARTIN *et al.*, 2003; GEST *et al.*, 2013).

O AsA e sua forma oxidada ácido L-dehidroascórbico (DHA) são representadas como vitamina C total (Figura 2).

Figura 2 - Fórmula estrutural dos ácidos L-ascórbico (AsA) e L-dehidroascórbico (DHA).

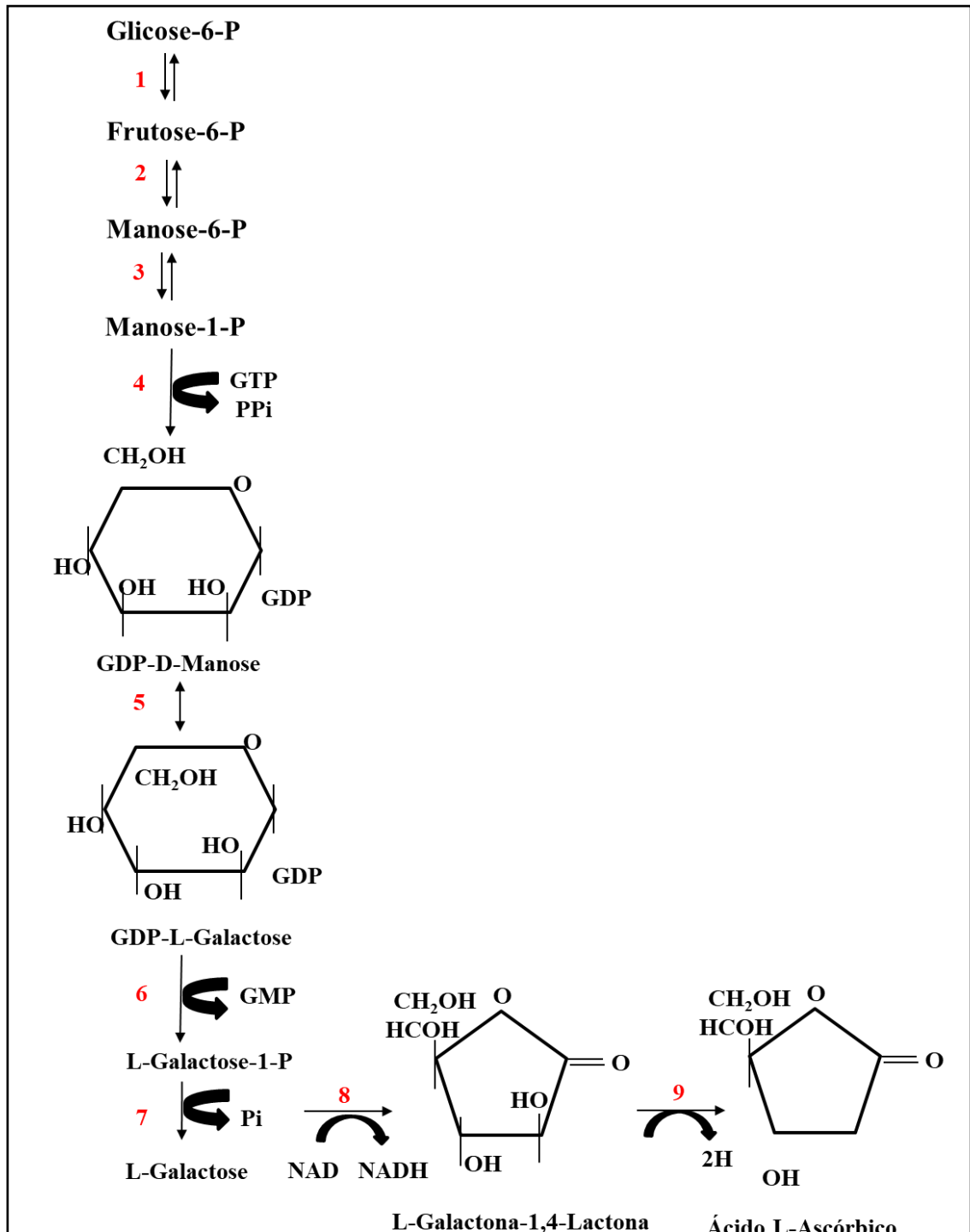


Fonte: Autor, 2018.

As plantas, fungos, protozoários e algumas espécies de animais conseguem sintetizar o AsA, mesmo que por diferentes rotas biossintéticas (BLEEG e CHRISTENSEN, 1982; BANHEGYI *et al.*, 1997; WHEELER, JONES e SMIRNOFF, 1998; LOGAN *et al.*, 2007). No organismo humano, o AsA desempenha papéis importantes como a formação de tecido conjuntivo, transporte de íons e proteção celular contra radicais livres (FOTOPOULOS *et al.*, 2008), contudo, os seres humanos e os primatas em geral perderam a capacidade de sintetizá-la com a evolução (LOCATO, CIMINI e GARA, 2013)

O conteúdo de AsA nos organismos que o produzem é rigorosamente regulado pela orquestração fina de biossíntese, reciclagem e degradação (AGIUS *et al.*, 2003; LINSTER e CLARKE, 2008; IOANNIDI *et al.*, 2009; LI *et al.*, 2010; CRUS-RUS *et al.*, 2011; OSORIO *et al.*, 2013). Nas plantas superiores, a biossíntese de AsA ocorre por quatro rotas sendo a principal a da L-galactose ou Smirnoff-Wheeler (WHEELER, JONES e SMIRNOFF, 1998) que foi completamente elucidada em *Arabidopsis* (Figura 3)(STEVENS *et al.*, 2007).

Figura 3 -Via da L-galactose ou Smirnof-Wheeler de biossíntese do ácido L-ascórbico. As enzimas que catalisam as reações dessa via estão numeradas de 1-9, onde 1: Hexose fosfato isomerase; 2: Fosfomanose isomerase; 3: Fosfomanose mutase; 4: Pirofosforilase da GDP-manose (GMP); 5: GDP-manose-3,5-epimerase (GME); 6: Fosforilase da GDP-L-galactose (GGP); 7: Fosfato fosfatase da L-galactose; 8: Desidrogenase da L-galactose (GIDH); 9: Desidrogenase da L-galactona-1,4-lactona (GalLDH).



Fonte: Stevens *et al.*, 2007.

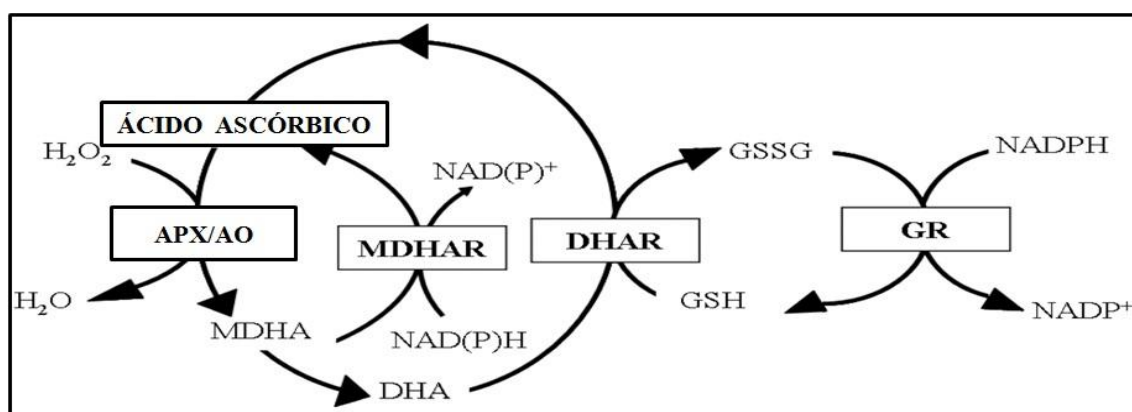
A conversão da GDP-D-manose em L-galactose inicia-se com uma reação deepimerização nos carbonos 3 e 5 (C3 e C5), catalisada pela enzima epimerase da 3,5-GDP-Dmanose (GME, EC 5.1.3.18). As reações subsequentes catalisadas pelas enzimas fosforilase da GDP-L galactose (GGP, EC 5.1.3.18) e fosfatase da L-galactose-1-fosfato (GPP, EC 3.1.3.25) promovem a liberação de L-galactose, a qual é oxidada pela desidrogenase da L-galactose (GDH, EC 1.1.1.48) para formar L-galactona-1,4-lactona. Este último é



então oxidado a ácido ascórbico, por ação da enzima desidrogenase da L-galactona-1,4-lactona (GalLDH, EC 1.3.2.3), onde o citocromo c atua como acceptor de elétrons (ÔBA *et al.*, 1994; WOLUCKA e VANMONTAGU, 2003).

Uma vez sintetizado, o AsA não é um produto metabólico estável sendo rapidamente oxidado por conta de seu potencial antioxidante capaz de aceitar elétrons de uma ampla gama de radicais livres, e assim eliminar espécies reativas de oxigênio ou ainda atuar como cofator enzimático (YIN *et al.*, 2010; MELLIDOU e KANELIS, 2017). Portanto, os níveis de AsA nas plantas são mantidos por um equilíbrio eficiente entre a biossíntese, oxidação e reciclagem, estes últimos processos são explicados no ciclo do ascorbato-glutationa (Figura 4) (FOYER e HALLIWELL, 1976; FOYER e NOCTOR, 2011).

Figura 4 - Representação esquemática da degradação e reciclagem do ácido L-ascórbico. APX: Peroxidase do ascorbato; AO: Ascorbato oxidase; MHA: Monodehidroascorbato; DHA: Dehidroascorbato; MDHAR: monodehidroascorbato redutase; DHAR: Dehidroascorbato redutase; GSH: Glutationa reduzida; GSSG: Glutationa oxidada; GR: Glutationa redutase.



Fonte: Foyer e Noctor, 2011.

O primeiro passo do ciclo ascorbato-glutationa (AsA-GSH) visando a reciclagem de AsA é catalisado pela enzima peroxidase do ascorbato (APX, EC 1.11.1.11) que utiliza duas moléculas de AsA para reduzir peróxido de hidrogênio ( $H_2O_2$ ) a água. Ou por oxidação catalisada pela ascorbato oxidase (AO, EC 1.10.3.3), de modo que o produto de ambas essas reações é a primeira forma oxidada, monodehidroascorbato (MDHA).

O MDHA pode ser regenerado a ascorbato por ação enzimática da monodehidroascorbato redutase (MDHAR, EC 1.6.5.4) utilizando o poder redutor do NADH como doador de elétrons. Ou, como o MDHA é um radical, duas moléculas de MDHA podem reagir espontaneamente regenerando AsA e sua forma mais oxidada, o dehidroascorbato (DHA) que é instável em meio aquoso e sofre clivagem hidrolítica formando o ácido 2,3-dicetogulônico (FOYER e NOCTOR, 2011).

Já em meio biológico, o DHA pode ser convertido em ácido ascórbico por ação da enzima dehidroascorbato redutase (DHAR, EC 1.8.5.1), a qual utiliza a glutatona reduzida (GSH) como agente redutor. A glutatona oxidada (GSSG) liberada como produto dessa reação é regenerada por ação da enzima glutatona redutase, (GR, EC 1.8.1.7) à custa do poder redutor do NADPH (FOYER e HALLIWELL, 1976; FOYER e NOCTOR, 2011).

A regeneração do ácido L-ascórbico é muito importante, e sem isso, o pool de AsA seria totalmente esgotado em algumas horas, especialmente em condições de estresse (ASADA, 1992; MELLIDOU *et al.*, 2012). Assim, vários autores propõem que o aumento dos níveis de AsA através de uma melhor reciclagem pode proporcionar uma maior proteção direta contra os radicais livres do que através do aumento da biossíntese (STEVENS *et al.*, 2007; SAUVAGE *et al.*, 2014; LIU *et al.*, 2015; TRUFFAULT *et al.*, 2017).

Embora as informações sobre os papéis fisiológicos da biossíntese e reciclagem de AsA tenham sido relatadas para tecidos fotossintéticos (HANCOCK e VIOLA, 2005; ISHIKAWA, DOWDLE e SMIRNOFF, 2006), poucos estudos se concentraram no mecanismo de regulação e acumulação em tecidos de frutos, por exemplo. Assim, compreender como os níveis de AsA são controlados em frutos através das vias de reciclagem, especialmente em uma situação de estresse, é fundamental para aperfeiçoar as tecnologias de conservação visando o aumento ou preservação do conteúdo de AsA durante o armazenamento pós-colheita.

## **Metabolismo de compostos fenólicos**

Os compostos fenólicos são produtos do metabolismo secundário das plantas, os quais compreendem um grupo diverso de moléculas que têm uma grande variedade de estruturas e funções (LIN *et al.*, 2016). Estes podem ser classificados em compostos solúveis em água (fenólicos ácidos, fenilpropanoides, flavonoides e quinonas) e compostos insolúveis em água (taninos condensados, ligninas e ácidos hidroxicinâmicos ligados à parede celular) (WHITE, HOWARD e PRIOR, 2010; HAMINIUK *et al.*, 2012) sendo quimicamente caracterizados pela presença de um grupo fenol e de, pelo menos, um anel benzênico ligado a um ou mais grupos hidroxilos (TAIZ e ZEIGER, 2017).

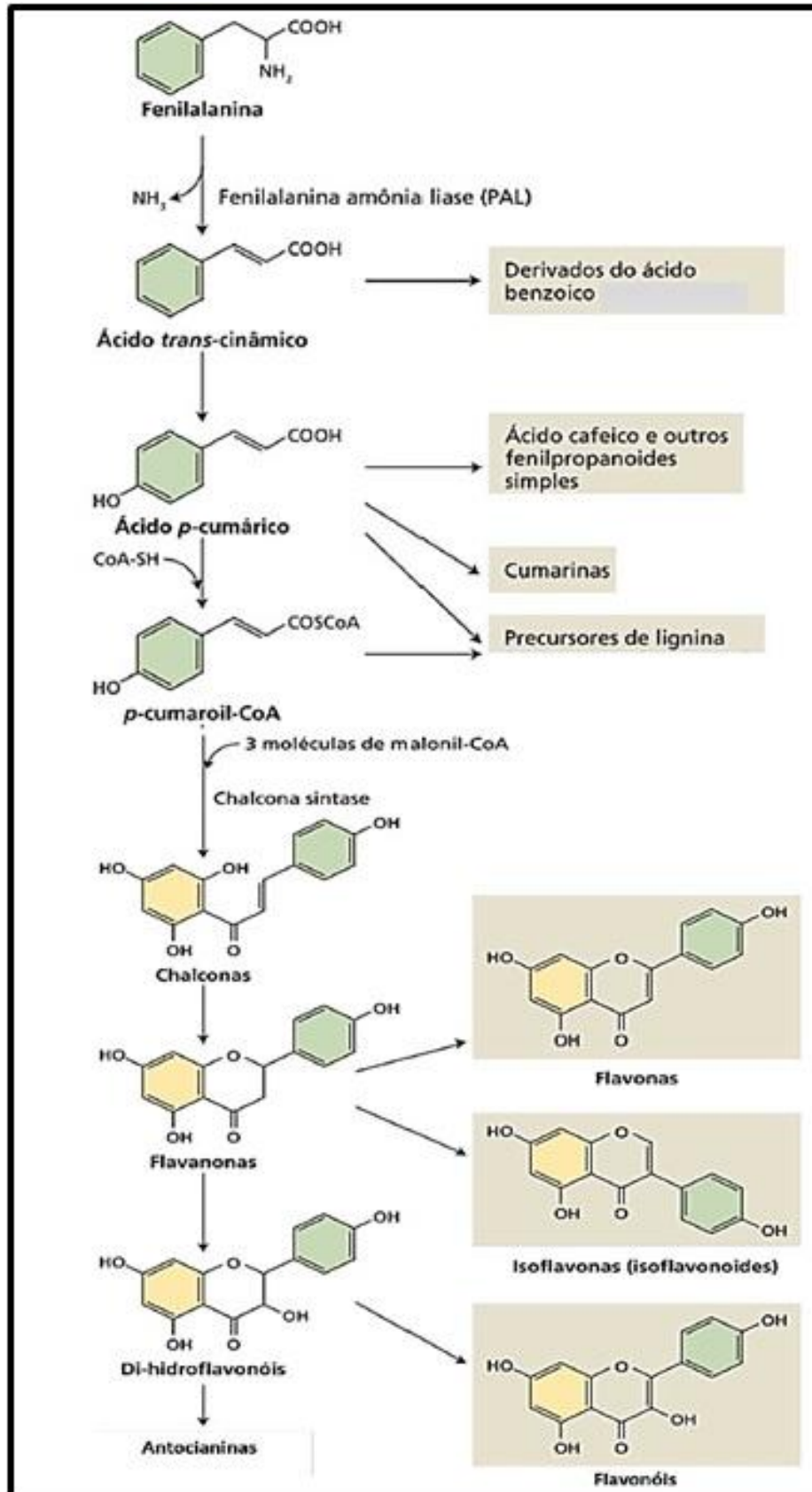
Esta classe de fitoquímicos encontra-se amplamente difundida no reino vegetal, distribuída por toda a planta de forma heterogênea, com aproximadamente 10.000 compostos (BABBAR *et al.*, 2014; LIN *et al.*, 2016). Esses compostos são sintetizados durante o desenvolvimento normal da planta, bem como em resposta a diferentes situações, como

estresse e radiação UV (NACZK e SHAHIDI, 2004; DZIALO *et al.*, 2016), atuando no sistema de defesa contra herbívoros e patógenos, na redução do crescimento de plantas competidoras adjacentes (alelopatia), como atraentes de polinizadores, bem como em atividades antibacterianas e antifúngicas, dentre outras (EDREVA *et al.*, 2008; TAIZ e ZEIGER, 2017). Dentre as várias funções fisiológicas que os compostos fenólicos exercem nas células vegetais, a mais significativa é a ação antioxidante contra o estresse oxidativo (CLOSE e MCARTHUR, 2002; KULBAT, 2016).

Os compostos fenólicos podem atuar como antioxidantes pela supressão do oxigênio singleto ou de radicais livres prevenindo lesões celulares (RICE-EVANS, 1995; LUO *et al.*, 2011). Em linhas gerais, essa propriedade antioxidante se deve principalmente à sua habilidade em doar hidrogênios dos grupos hidroxila posicionada ao longo do anel benzênico, a fim de impedir a oxidação de lipídeos e outras biomoléculas (FOTI *et al.*, 1994; ALAMED *et al.*, 2009).

Os fenólicos são produzidos na via metabólica dos fenilpropanoides, na qual há um redirecionamento de carbonos do metabolismo primário a partir do aminoácido fenilalanina, para o metabolismo secundário (Figura 5). A desaminação não oxidativa da L-fenilalanina é catalisada pela enzima fenilalanina amônia liase (PAL, EC 4.3.1.24) e resulta na formação de ácido *trans*-cinâmico que originará os demais fenilpropanoides (FERRER *et al.*, 2008).

Figura 5 -Biossíntese de compostos fenólicos a partir da fenilalanina.



Fonte: Taiz e Zeiger, 2017.

A PAL apresenta uma massa molecular na faixa de 270-330 kDa sendo encontrada amplamente em plantas, assim como algumas bactérias, leveduras e fungos (APPERT, 1994). Por catalisar a primeira etapa na via de síntese dos fenilpropanoides atuando como um regulador chave na transição do metabolismo primário para o secundário, a PAL apresenta-se como uma das enzimas mais estudadas no metabolismo secundário vegetal (TAIZ e ZEIGER, 2017).

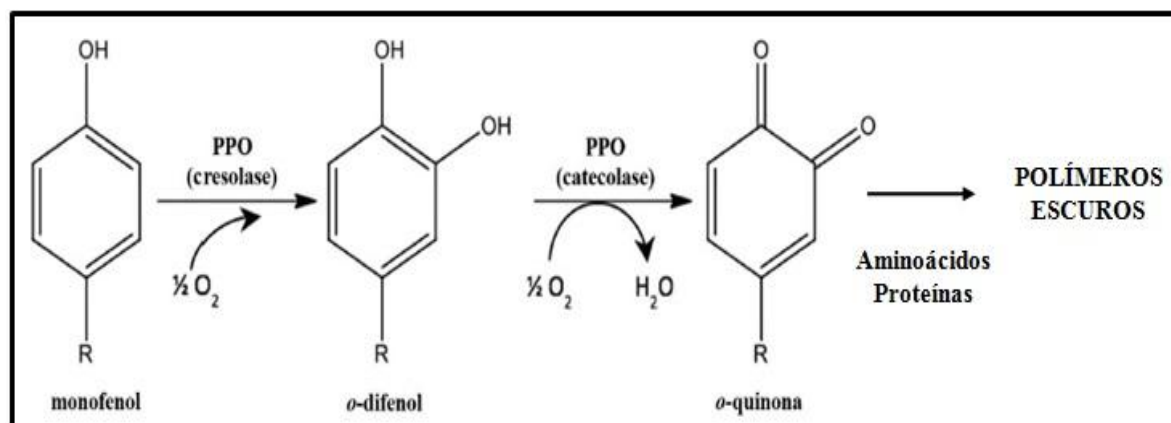
No reino vegetal em geral, a atividade da PAL é influenciada por vários fatores externos e internos, como: hormônios, níveis de nutrientes, luz, infecção por patógenos (FERRER *et al.*, 2008). Na pós-colheita, vários estudos vêm demonstrando que a atividade da PAL é induzida em resposta a vários estímulos como o corte (JUNQUEIRA *et al.*, 2014; SIMÕES *et al.*, 2015), a temperatura de armazenamento (NUNES *et al.*, 2010; PIRES *et al.*, 2016), o estresse induzido por radiação UV-C (BERTONCELLI *et al.*, 2014; SURJADINATA *et al.*, 2017) e com luz pulsada (LOPES *et al.*, 2016; RABELO, 2016).

As reações subsequentes àquelas catalisadas pela PAL levam a síntese de flavonoides e ácidos fenólicos simples, os quais são os compostos fenólicos amplamente distribuídos nos frutos e vegetais (SILVA *et al.*, 2010). Os flavonoides amarelos como a quercetina e as antocianinas são compostos fenólicos com elevada capacidade antioxidante (HANAMURA *et al.*, 2005; SOUZA *et al.*, 2014). Os frutos da aceroleira são ricos em compostos fenólicos e, em especial as antocianinas que conferem a pigmentação vermelha nesses frutos. Maciel *et al.* (2010) avaliaram frutos maduros de 18 genótipos de aceroleira cultivados no estado de Pernambuco e relataram conteúdos de antocianinas variando de 43,5 a 121,3 mg.Kg<sup>-1</sup>MF e de flavonoides entre 44,1 a 108,0 mg.Kg<sup>-1</sup>MF. Souza *et al.* (2014) encontraram variações de antocianinas e flavonoides amarelos de 50,7 a 123,7 e 73,6 a 98,2 mg.Kg<sup>-1</sup>MF, respectivamente, em frutos maduros de três cultivares de aceroleira cultivadas no estado do Ceará.

A degradação dos compostos fenólicos pode ser realizada de forma não enzimática por oxidação química ou pela atuação de enzimas conhecidas como oxidoredutases (YORUK e MARSHALL, 2003), influenciando diretamente a capacidade antioxidante de frutos e vegetais (MANZOCCO *et al.*, 2000). De maneira geral, a atuação dessas enzimas ocorre quando os frutos e vegetais são lesionados mecanicamente durante os procedimentos de colheita, manuseio, embalagem, transporte e armazenamento ou quando passam por beneficiamento na indústria desenvolvendo um escurecimento na presença do oxigênio molecular (CHITARRA e CHITARRA, 2005; JACOMINO *et al.*, 2008).

A polifenoloxidase (PPO, EC 1.14.18.1), também conhecida como catecol oxidase, catecolase, difenol oxidase, o-difenolase, fenoloxidase, tirosinase, ou cresolase é uma enzima que contém íon  $\text{Cu}^{2+}$  no sítio ativo e peso molecular variando de 35 a 100 kDa (MARTINEZ e WHITAKER, 1995; DOGAN *et al.*, 2005). Nas células vegetais, a PPO situa-se nos plastídios, estando fisicamente separados de seus substratos, os fenólicos, predominantemente localizados nos vacúolos. A partir do momento que o tecido vegetal é danificado e ocorre uma perda de compartimentalização, a enzima e seus substratos entram em contato iniciando a reação de oxidação que leva ao escurecimento (MURATA, NODA e HOMMA, 1997; PARKIN, 2010, LIU *et al.*, 2011). De modo geral, a PPO catalisa a hidroxilação de monofenóis (atividade de cresolase) e a oxidação de o-difenol para sua correspondente quinona, na presença de oxigênio (atividade de catecolase). As o-quinonas formadas são instáveis e assim polimerizam-se rapidamente ou reagem com aminoácidos, peptídeos e proteínas, causando alterações estruturais e funcionais, diminuição do valor nutricional dos alimentos e dão origem a pigmentos escuros (melaninas) conforme reações descritas na Figura 6 (ESCRIBANO *et al.*, 1997; YORUK e MARSHALL, 2003; CONCELÓN *et al.*, 2004).

Figura 6 - Reação catalisada pela polifenoloxidase



Fonte: Adaptado de Yoruk e Marshall, 2003.

Para a maioria dos vegetais, o escurecimento dos tecidos acarreta na redução da sua qualidade, devido à alteração de propriedades sensoriais e diminuição das propriedades nutricionais (PARKIN, 2010). Nesse contexto, estudos relacionados com o armazenamento pós-colheita demonstraram que o estresse induzido por fontes irradiantes (UV-C, luz pulsada) são capazes de inibir ou diminuir a atividade da PPO através da desnaturação dessa enzima (MOHAMMADI *et al.*, 2012; SOUZA, 2014; TEOH *et al.*, 2016; RABELO, 2016), contudo, tal efeito está diretamente relacionado com o tipo de produto vegetal e a dose da fonte irradiante utilizada. De modo geral, a inativação da PPO pela exposição aos tratamentos com

radiação UV deve-se ao desdobramento das cadeias proteicas em temperatura ambiente, o que aumenta a taxa de absorção da luz UV pelas ligações duplas conjugadas levando à desnaturação parcial ou total das enzimas oxidativas (GUERRERO-BELTRAN, 2004).

### 3 MATERIAIS E MÉTODOS

#### Material vegetal

Frutos de aceroleira (*Malpighia emarginata* DC) da cultivar Okinawa foram adquiridos maduros na Central de Abastecimento do Ceará – CEASA em Fortaleza, CE. Os frutos foram transportados em caixas plásticas até o Laboratório de Bioquímica e Fisiologia Pós-colheita de Frutos da Universidade Federal do Ceará, onde foram selecionados quanto à coloração e a ausência de injúrias mecânicas e defeitos fisiológicos.

#### Tratamento com luz pulsada (LP)

O tratamento com LP foi realizado nas dependências do Laboratório de Processos Agroindustriais da Embrapa Agroindústria Tropical localizada em Fortaleza, CE. Os frutos tratados com LP foram colocados sobre um suporte transparente de teflon dentro de uma câmara (SteriBeam®, XeMaticA-2LXL, Alemanha) (Figura 7) equipada com duas lâmpadas de xenônio (190 mm cada) (não tóxicas e livres de mercúrio). As lâmpadas estavam posicionadas lateralmente e produziram dois pulsos com energia total de  $0,6 \text{ J.cm}^{-2}$  sobre os frutos numa posição de  $360^\circ$ , conforme preconizado por Rabelo (2016).

Figura 7- Equipamento de luz pulsada utilizado neste estudo.



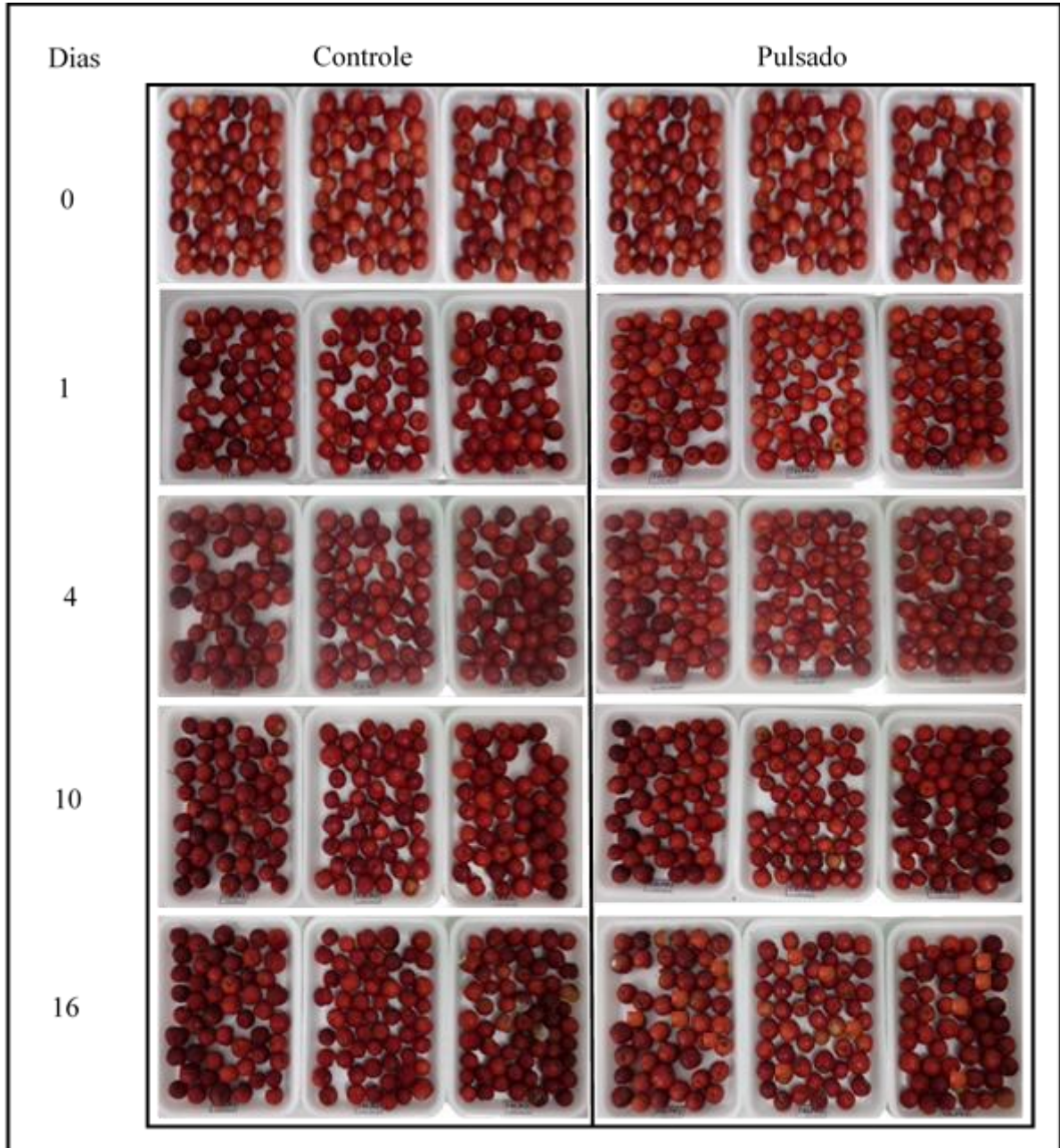
Fonte: Autor, 2018.

Imediatamente após a aplicação da LP os frutos (200 g) foram dispostos em bandejas de poliestireno revestidos com filme plástico de PVC 14 micras e armazenados sob



refrigeração em câmara do tipo B.O.D (*Biochemical Oxygen Demand*) à temperatura de  $10 \pm 2$  °C por um período de 16 dias conforme verificado na Figura 8.

Figura 8 - Acerolas ‘Okinawa’ tratadas com luz pulsada ( $0,6 \text{ J.cm}^{-2}$ ) e armazenadas sob refrigeração (10 °C) por 16 dias.



Fonte: Autor, 2018.

O tratamento controle foi realizado nas mesmas condições e com a mesma quantidade de amostras, porém sem a aplicação de LP. Em cada período de avaliação (0, 1, 4, 10 e 16 dias), os frutos tratados ou não foram processados em centrífuga doméstica e a polpa armazenada a -18°C até o momento da análise. Os frutos foram analisados quanto à influência

da LP sobre o metabolismo de vitamina C e de fenólicos (conteúdo e atividade de enzimas de síntese, reciclagem e degradação), assim como seu efeito sobre a histologia.

### **Avaliações do metabolismo de vitamina C**

#### ***Determinação de vitamina C total, reduzida e oxidada***

O conteúdo de vitamina C total e de suas formas reduzida (AsA) e oxidada (DHA) foram mensuradas seguindo o método proposto por Chen e Wang (2002). Em banho de gelo, a polpa (1,0 g) foi homogeneizada com 25 mL de TCA 5% e posteriormente centrifugada (Sigma 2-16 KL) a 15.000 x g por 12 minutos a 4 °C. O sobrenadante foi separado e utilizado como extrato para a determinação de vitamina C.

Para a quantificação de AsA, uma mistura contendo 50 µL do extrato, 12,5 µL do tampão fosfato de potássio 100 mM (pH 7,7), e 175 µL de uma mistura contendo TCA 10%, ácido fosfórico, 2,2-bipiridil e 0,3% de tricloreto de ferro foi incubado a 37 °C por 60 minutos e então, absorbância foi monitorada a 525 nm em leitor de microplacas (Synergyx Mx, Biotek, Estados Unidos). Para a quantificação de vitamina C total, uma mistura contendo 50 µL do extrato, 25 µL de tampão fosfato de potássio 100 mM (pH 7,7) e 12,5 µL de ditioneitol (DTT) 0,01 mM foi mantida em repouso a temperatura ambiente (25 °C) por 10 minutos. Após esse período, foram adicionados 175 µL de uma mistura contendo TCA 10%, ácido fosfórico 8,8%, 2,2-bipiridil 0,8% e tricloreto de ferro 0,3%. A mistura foi mantida a 37 °C por 60 minutos e em seguida a absorbância foi medida a 525 nm. O DHA foi quantificado a partir da diferença entre a concentração de vitamina C total e de AsA. Uma curva padrão de ácido ascórbico (Sigma-Aldrich<sup>®</sup>, MO-EUA) foi utilizada no cálculo das análises e os resultados foram expressos em mg.Kg<sup>-1</sup> massa fresca (MF).

#### ***Atividade da desidrogenase da L-galactona-1,4-lactona (GalLDH, EC 1.3.2.3)***

A obtenção do extrato enzimático e o ensaio de atividade da GalLDH foram realizados conforme Ôba *et al.* (1994), com adaptações. As mitocôndrias foram extraídas a partir de 1,5 g de polpa por 2 minutos em homogeneizador de tecidos Ultraturrax<sup>®</sup> (IKA, T25 digital) com 10 mL de solução tampão Tris-HCl 100 mM (pH 7,4), contendo sacarose 400 mM, 1 mM de ácido etilenodiamino tetra-acético (EDTA), 1% de polivinilpirrolidona (PVP), 10% de glicerol e β-mercaptoetanol 30 mM e centrifugado a 500 x g por 15 minutos a 4 °C. O sobrenadante foi recolhido e centrifugado novamente a 12.000 x g por 20 minutos a 4 °C, o

precipitado resultante deste foi ressuspensão em 3 mL do tampão Tris-HCl 50 mM (pH 8,5) contendo 5 mM de glutatona e 10% de glicerol e centrifugado a 2000 x g por 10 minutos a 4 °C, o sobrenadante resultou no extrato de proteínas mitocondriais.

O ensaio de atividade foi realizado a partir de uma mistura composta por 10 µL do extrato proteico mitocondrial e 160 µL de citocromo *c* 80 mM. Após 5 minutos a 25 °C foi adicionado 50 µL de L-galactona-1,4-lactona (L-Gal) 4,6 mM, que desencadeou o início da reação. O aumento na absorbância de 550 nm foi monitorado com auxílio de um leitor de microplacas (Synergy Mx, Biotek, Estados Unidos) a cada 1 minuto por 20 minutos, devido à redução do citocromo *c*. A atividade foi calculada usando o coeficiente de extinção molar ( $\epsilon = 21,3 \text{ mM}^{-1} \cdot \text{cm}^{-1}$ ). Uma unidade de atividade enzimática foi definida como a quantidade de enzima requerida para oxidar 1 µmol de L-Gal (equivalente à formação de 2 µmol de citocromo *c* reduzido) por minuto e expressa em µmol L-Gal oxidada.min<sup>-1</sup>.mg<sup>-1</sup> proteína (P).

A atividade específica das análises enzimáticas deste estudo foram determinadas com base na concentração de proteínas solúveis obtida a partir de uma curva padrão utilizando albumina sérica bovina (BSA) e os resultados expressos em mg<sup>-1</sup> de proteína (P) (BRADFORD, 1976).

#### ***Atividade da Ascorbato oxidase (AO, EC 1.10.3.3)***

O extrato enzimático foi preparado de acordo com Cardello e Cardello (1998). Em banho de gelo, a polpa (2,0 g) foi homogeneizada por 1 minuto com 8 mL da solução tampão acetato de sódio 20 mM (pH 5,5), contendo cloreto de sódio 150 mM. Em seguida, o homogenato foi centrifugado a 15.000 x g por 30 minutos a 4 °C e o sobrenadante separado e utilizado como extrato enzimático.

A atividade da AO foi determinada espectrofotometricamente de acordo com a metodologia proposta por Bergmeyer *et al.* (1983), com algumas modificações. A mistura de reação foi composta por 290 µL do tampão fosfato dibásico de sódio 10 mM (pH 5,5), contendo 50 µL de AsA 0,5 mM e 50 µL de extrato enzimático. A mistura foi incubada a 30 °C, e após 5 minutos, a reação foi interrompida pela adição de 1,0 mL de ácido clorídrico 0,2 N. O decréscimo na absorbância a 245 nm foi monitorado a cada 1 minuto por 5 minutos, devido à oxidação do AsA. A atividade foi calculada usando o coeficiente de extinção molar ( $\epsilon = 10 \text{ mM}^{-1} \cdot \text{cm}^{-1}$ ) e os resultados expressos em µmol AsA.min<sup>-1</sup>.mg<sup>-1</sup>P.

### ***Atividade da Peroxidase do ascorbato (APX, EC 1.11.1.11)***

O extrato foi preparado seguindo protocolo modificado de Yang *et al.* (2009). Em banho de gelo, a polpa (1,0 g) foi homogeneizada por 1 minuto com 10 mL de solução tampão fosfato de potássio 0,1 M (pH 7,0), contendo 0,1 mM de EDTA. Em seguida, o homogenato foi centrifugado a 15.000 x g durante 20 minutos a 4 °C e o sobrenadante separado e utilizado como extrato enzimático.

A atividade da APX foi determinada de acordo com a metodologia descrita por Nakano e Asada (1981). A mistura reacional foi composta por 210 µL de tampão fosfato de potássio 0,05 M (pH 6,0), contendo EDTA a 0,05 mM, 20 µL de extrato enzimático, 10 µL de peróxido de hidrogênio (H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>) a 5,96 M e 10 µL de AsA 0,015 M. O decréscimo na absorbância de 290 nm foi monitorado a cada 1 minuto por 20 minutos, devido à oxidação do AsA. A atividade foi calculada usando o coeficiente de extinção molar ( $\epsilon = 2,8 \text{ mM}^{-1} \cdot \text{cm}^{-1}$ ) sendo os resultados expressos em  $\mu\text{mol H}_2\text{O}_2 \cdot \text{min}^{-1} \cdot \text{mg}^{-1} \text{P}$ , considerando que 1 mol de AsA é necessário para a redução de 1 mol de H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>.

### ***Atividade da Monodehidroascorbato redutase (MDHAR, EC 1.6.5.4)***

O extrato para a análise das enzimas (MDHAR, DHAR e GR) foi preparado de acordo com a metodologia descrita por Cocetta *et al.* (2012). Em banho de gelo, a polpa (0,5 g) foi homogeneizada por 1 minuto com 10 mL do tampão fosfato de potássio 100 mM (pH 7,8), contendo EDTA 1 mM, glicerol 25 % (p/v), 0,25% de Triton X-100 e 0,1 g de polivinilpirrolidona (PVPP). No momento antes da extração,  $\beta$ -mercaptoetanol 1 mM, Fenilmetilsulfonil fluoreto (PMSF) 1 mM (dissolvido em Dimetilsulfóxido (DMSO)) e ácido ascórbico 1 mM foram adicionados ao tampão. Em seguida, o homogenato foi centrifugado a 20.000 x g por 30 minutos a 4 °C. O sobrenadante foi separado e utilizado como extrato enzimático.

A atividade da MDHAR foi determinada seguindo a metodologia descrita por Cocetta *et al.* (2012). A mistura reacional constitui de 220 µL do tampão Tris-HCl 50 mM (pH 7,6) contendo 2,5 mM de ácido ascórbico e 0,1 mM de NADH e 25 µL do extrato enzimático. Após 3 minutos de incubação a 25 °C foi adicionado ao meio de 0,14 U da enzima ascorbato oxidase (4 µL) que desencadeou a reação liberando monodehidroascorbato (MDHA) no meio. O decréscimo na absorbância de 340 nm foi monitorado a cada 1 minuto por 5 minutos

devido a oxidação do NADH. A atividade foi calculada usando o coeficiente de extinção molar ( $\epsilon = 6,22 \text{ mM}^{-1} \cdot \text{cm}^{-1}$ ) e os resultados foram expressos em  $\mu\text{mol NADH} \cdot \text{min}^{-1} \cdot \text{mg}^{-1}\text{P}$ .

#### ***Atividade da Dehidroascorbato redutase (DHAR, EC 1.8.5.1)***

A atividade da DHAR foi determinada seguindo a metodologia descrita por Murshed, Lopez-Lauri e Sallanon (2008). A mistura reacional foi composta por 180  $\mu\text{L}$  do tampão HEPES 50 mM (pH 7,0), contendo EDTA 0,1 mM e glutathiona reduzida (GSH) 2,5 mM e 10  $\mu\text{L}$  do extrato enzimático. Após 1 minuto a temperatura de 25 °C a reação foi desencadeada pela adição de 50  $\mu\text{L}$  de DHA 0,02 mM. O aumento na absorbância de 265 nm foi monitorado através de um leitor de microplacas (Synergyx Mx, Biotek, Estados Unidos) a cada 1 minuto por 5 minutos devido à formação do AsA. A atividade foi calculada usando o coeficiente de extinção molar ( $\epsilon = 14 \text{ mM}^{-1} \cdot \text{cm}^{-1}$ ) e os resultados foram expressos em  $\mu\text{mol DHA} \cdot \text{min}^{-1} \cdot \text{mg}^{-1}\text{P}$ .

#### ***Atividade da Glutathiona redutase (GR, EC 1.6.4.2)***

A atividade da GR foi determinada de acordo com a metodologia descrita por Cocetta *et al.* (2012). A mistura reacional foi composta por 80  $\mu\text{L}$  do tampão Tris-HCl 100 mM (pH 7,8), contendo 2 mM EDTA e 0,5 mM de glutathiona oxidada (GSSG) e 10  $\mu\text{L}$  do extrato enzimático. Após 1 minuto à temperatura de 25 °C, a reação foi desencadeada pela adição de 210  $\mu\text{L}$  de NADPH (0,05 mM). O decréscimo na absorbância de 340 nm foi monitorado a cada 1 minuto por 5 minutos devido à oxidação do NADPH. A atividade foi calculada usando o coeficiente de extinção molar ( $\epsilon = 6,22 \text{ mM}^{-1} \cdot \text{cm}^{-1}$ ) e os resultados foram expressos em  $\mu\text{mol de NADPH} \cdot \text{min}^{-1} \cdot \text{mg}^{-1}\text{P}$ .

### **Avaliações do metabolismo de compostos fenólicos**

#### ***Determinação de polifenóis extraíveis totais***

O extrato utilizado para determinar o conteúdo de polifenóis extraíveis totais foi obtido conforme metodologia de Larrauri, Ruperez e Saura-Calixto (1997). A polpa (1,0 g) foi suspensa em 4,0 mL de metanol 50%, homogeneizada e deixada em repouso por 1 hora, à temperatura ambiente. Posteriormente, o material foi centrifugado a 16.000 x g, por 15 minutos, a 20 °C e o sobrenadante recolhido. O precipitado dessa extração foi ressuspenso em

4,0 mL de acetona 70%, homogeneizado, deixado em repouso por 1 hora em ambiente e então, centrifugado a  $16.000 \times g$  por 15 minutos, a  $20\text{ }^{\circ}\text{C}$ . O sobrenadante foi recolhido, colocado em balão volumétrico junto ao primeiro extrato e o volume aferido para 10 mL com água destilada.

O conteúdo de polifenóis totais foi determinado pelo método de Folin-Ciocalteu (OBANDA e OWUOR, 1997) adaptado por Rufino *et al.* (2006). Em microtubos protegidos da luz, foram adicionados nesta ordem: 100  $\mu\text{L}$  do extrato, 650  $\mu\text{L}$  de água destilada, 250  $\mu\text{L}$  do reativo de Folin-Ciocalteu e 500  $\mu\text{L}$  de carbonato de sódio anidro 20% (*m/v*). Após homogeneização, os tubos descansaram por 30 minutos protegidos da luz e a temperatura ambiente. A leitura da absorbância foi realizada a 700 nm, sendo o ácido gálico (Acrós Organics) usado como padrão e os resultados expressos em mg de equivalentes de ácido gálico ( $\text{EAG} \cdot \text{Kg}^{-1} \text{MF}$ ).

### ***Flavonoides amarelos***

O conteúdo de flavonoides amarelos foi determinado seguindo a metodologia descrita por Francis (1982). A polpa (1,0 g) foi suspensa em 20 mL de etanol-HCl 1,5 N, na proporção 85:15. A amostra foi processada utilizando um homogeneizador de tecidos por 2 minutos e transferida para um balão volumétrico âmbar de 25 mL, aferindo-se o volume com a solução extratora. O conteúdo do balão foi acondicionado em frasco âmbar e deixado descansar por 12 horas a  $4\text{ }^{\circ}\text{C}$ , protegido da luz. Posteriormente, o material foi filtrado utilizando papel de filtro (Hack) e o filtrado (300  $\mu\text{L}$ ) teve sua absorbância monitorada a 374 nm, de modo que o conteúdo de flavonoides amarelos foi calculado utilizando o coeficiente de extinção molar ( $\epsilon = 76,6 \text{ L mol}^{-1} \cdot \text{cm}^{-1}$ ) e os resultados foram expressos em  $\text{mg} \cdot \text{Kg}^{-1} \text{MF}$ .

### ***Antocianinas monoméricas***

As antocianinas (2,0 g) de polpa foram extraídas conforme a metodologia proposta por Francis (1982) descrito no item 3.4.2. A determinação das antocianinas foi efetuada pelo método de pH diferencial, conforme descrito por Giusti e Wrolstad (2001). O extrato (150  $\mu\text{L}$ ) foi apropriadamente diluído em duas soluções tampão (100  $\mu\text{L}$ ): cloreto de potássio 0,025 M (pH 1,0) e acetato de sódio 0,4 M (pH 4,5). Após 15 minutos de repouso no escuro a temperatura de  $25\text{ }^{\circ}\text{C}$ , a absorbância foi medida a 510 e 700 nm e a concentração de

antocianina monomérica foi expressa como mg de cianidina 3-glicosídeo. Kg<sup>-1</sup> MF de acordo com Lee (2005), calculada através da seguinte equação:

$$\text{Antocianinas monoméricas: } \frac{A \times PM \times FD \times 1000}{\epsilon \times l}$$

Onde:

A = Absorbância (A510 nm – A700 nm) pH 1,0 – (A510 nm – A700 nm) pH 4,5;

PM = peso molecular (449,2 g.mol<sup>-1</sup> da cianidina 3-glicosídeo)

FD = fator de diluição neste trabalho (1,5);

$\epsilon$  = absortividade molar (26900 L<sup>-1</sup> mol<sup>-1</sup>cm<sup>-1</sup>);

l = comprimento do caminho óptico do poço da microplaca (0,69 cm).

#### ***Atividade da fenilalanina amônia liase (do inglês, PAL, EC 4.3.1.24)***

O extrato enzimático utilizado para a determinação da atividade da fenilalanina amônia liase foi preparado de acordo com o método proposto por Mori *et al.* (2001) e El-Shora (2002). Em banho de gelo, a polpa (1,0 g) foi homogeneizada durante 3 minutos com 4 mL de tampão Tris-HCl 10 mM (pH 8,4), contendo EDTA e polivinilpirrolidona (PVP), seguido de centrifugação a 10.000 x g durante 10 minutos a 4 °C, sendo o sobrenadante separado e utilizado como extrato enzimático. A mistura reacional foi composta de 5 µL de β-mercaptoetanol, 25 µL de extrato, 145 µL de tampão Tris-HCl 100 mM (pH 8,4) e 50 µL de L-fenilalanina a 40 mM. Após 1 hora de incubação a 30°C, a reação foi paralisada pela adição de 25 µL de HCl a 6 M. A absorbância foi determinada a 290 nm e uma curva padrão foi construída com base na quantidade de ácido transcinâmico formado e os resultados foram expressos em µmol ac.transcin.h<sup>-1</sup>.mg<sup>-1</sup>P.

#### ***Atividade da polifenoloxidase (PPO, EC 1.14.18.1)***

O extrato enzimático para a determinação da PPO foi preparado segundo o método descrito por Sojo *et al.* (1998) com modificações. Em banho de gelo, a polpa (1,0 g) foi homogeneizada durante 5 minutos com 10 mL do tampão fosfato de potássio 0,1 M (pH 6,0), contendo 4% de Triton X-100 e 0,02 g de PVPP. Após centrifugação a 5000 x g durante 40 minutos a 4 °C, o precipitado foi descartado e o sobrenadante incubado em banho-Maria durante 10 minutos a 37 °C, seguido por centrifugação a 2000 x g durante 20 minutos a 4 °C.

O sobrenadante foi utilizado como extrato para análise da atividade da PPO. A atividade foi determinada segundo Robinson (1987). A mistura reacional consistiu de 80 µL de tampão fosfato de potássio a 0,1 M (pH 6,0), 100 µL do extrato e 5 µL de substrato pirocatecol 0,1 M. Após incubação a 30 °C durante 30 minutos, a absorbância foi medida a 395 nm de modo que uma unidade de atividade enzimática (UA) foi definida como uma variação de 0,001 na absorbância da mistura a 395 nm e os resultados foram expressos como UA min<sup>-1</sup>.mg<sup>-1</sup>P.

### **Análise histológica**

Foram selecionados 3 frutos representativos de cada tratamento e mantidos em solução tampão fosfato de sódio a 0,02 M (pH 7,2) contendo glutaraldeído a 1% (v/v) e paraformaldeído a 4% (v/v) (KARNOVSKY, 1965). Em seguida, as amostras foram desidratadas em bateria crescente de etanol de 50 a 100% (v/v) seguido de pré-infiltração, infiltração e inclusão em resina (Kit Historesina-Jung, Alemanha). Cortes de epicarpo e mesocarpo de 6 µm de espessura foram realizados com auxílio de um micrótomo semiautomático (Leica RM 2065, Alemanha). Em seguida, os cortes foram colocados sobre placas de vidro e corados com azul de toluidina (TB) 0,025% (v/v) pH 4,0 (VIDAL, 1977). Os cortes foram observados e fotografados com um microscópio de luz (BX41, Olympus Optical, Japão) acoplado a uma câmara digital (UC30, Olympus, Japão) usando o software CELL.

### **Delineamento experimental e Análise estatística**

O delineamento experimental adotado foi o inteiramente casualizado (DIC) em arranjo fatorial 2x5 que corresponde a dois tratamentos: (com LP e sem LP) e cinco tempos de avaliação (0, 1, 4, 10 e 16 dias), com três repetições sendo cada parcela experimental composta por três bandejas com 200 g de fruto.

Os dados foram submetidos à análise de variância (ANOVA) e a comparação das médias realizada através do teste de Tukey ao nível de 5% de probabilidade com uso do software estatístico SISVAR 4.3.

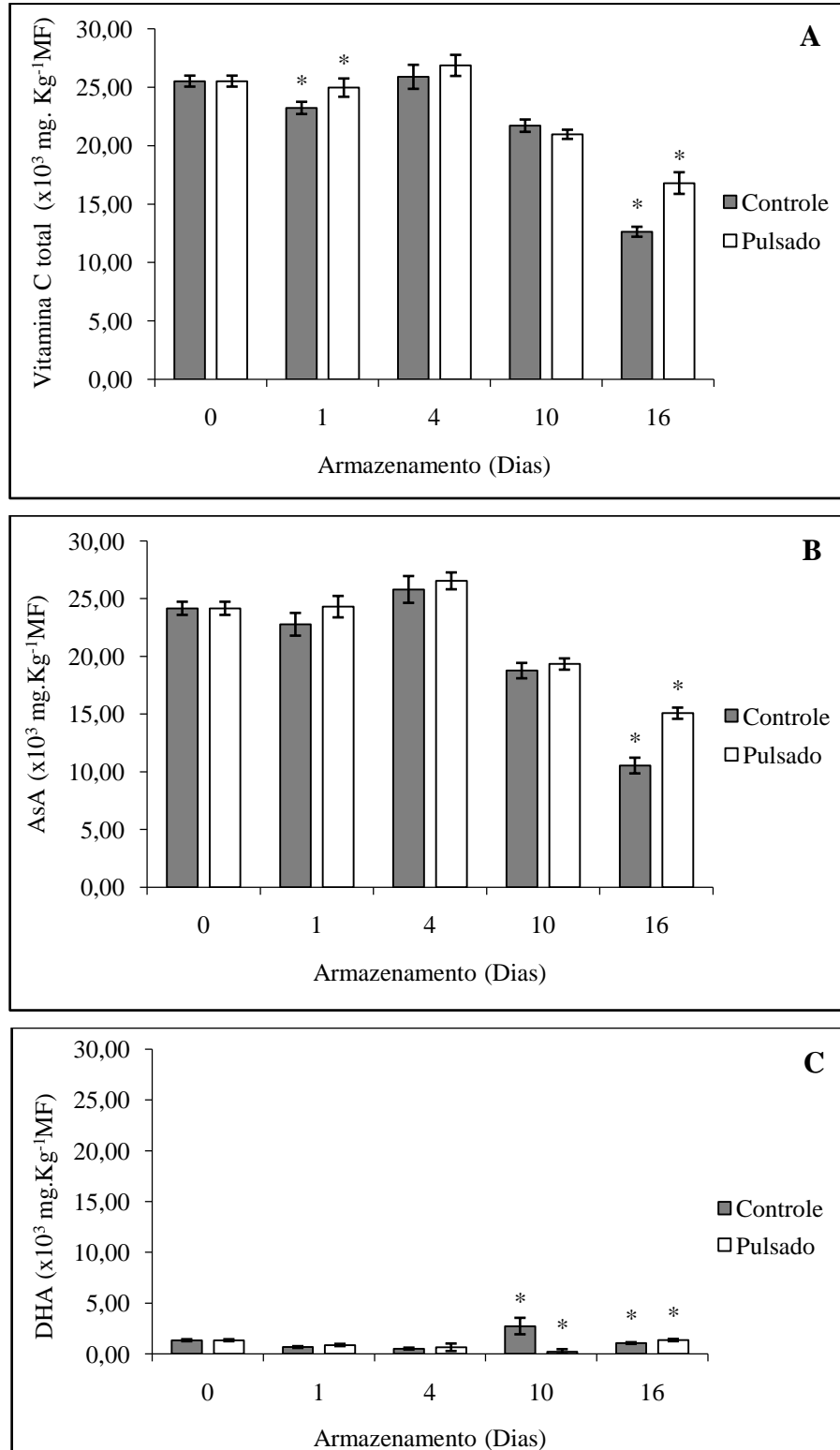


## 4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

### *Avaliações do metabolismo de vitamina C*

A vitamina C total representa as formas reduzida (AsA) e oxidada (DHA) e de acordo com os resultados apresentados na Figura 9A, o conteúdo inicial de vitamina C total foi 25.515,38 mg.Kg<sup>-1</sup>MF e manteve-se estável por até quatro dias de armazenamento. No entanto, após este período observa-se uma redução nos conteúdos, porém os frutos tratados com LP mantiveram níveis significativamente mais altos ( $p < 0,05$ ) (16.790,12 mg.Kg<sup>-1</sup>MF) que o controle (12.624,69 mg.Kg<sup>-1</sup>MF), ao final de 16 dias de armazenamento. Resultado similar foi observado para o conteúdo de AsA (Figura 9B), de modo que aos 16 dias de armazenamento, os frutos tratados com LP apresentam conteúdo significativamente maior quando comparados ao controle, com 15.081,48 e 10.548,15 mg.Kg<sup>-1</sup>MF, respectivamente. Ao contrário, os níveis de DHA aumentaram após o 4º dia de armazenamento (Figura 9C) com um valor significativamente mais alto para os frutos controle (2.743,21 mg.Kg<sup>-1</sup>MF) seguido de decréscimo aos 16 dias atingindo 1.365,24 mg.Kg<sup>-1</sup>MF para frutos tratados com LP, o qual foi estatisticamente superior que os frutos controle (1.070,03 mg.Kg<sup>-1</sup>MF). No início do armazenamento, as concentrações altas de AsA e baixas de DHA indicam que os mecanismos de reciclagem e síntese de AsA estavam ativos, porém a medida que os frutos avançavam na senescência, a capacidade de sintetizar e reciclar AsA foi declinando, possivelmente aliado à degradação.

Figura 9 - Conteúdo de vitamina C total (A), ácido ascórbico (AsA, B) e ácido dehidroascórbico (DHA, C) em acerolas 'Okinawa' tratadas com luz pulsada ( $0,6 \text{ J.cm}^{-2}$ ) e armazenadas sob refrigeração ( $10 \text{ }^\circ\text{C}$ ) por 16 dias. \*Representa uma diferença significativa entre os tratamentos dentro de cada tempo de armazenamento,  $p < 0,05$ .

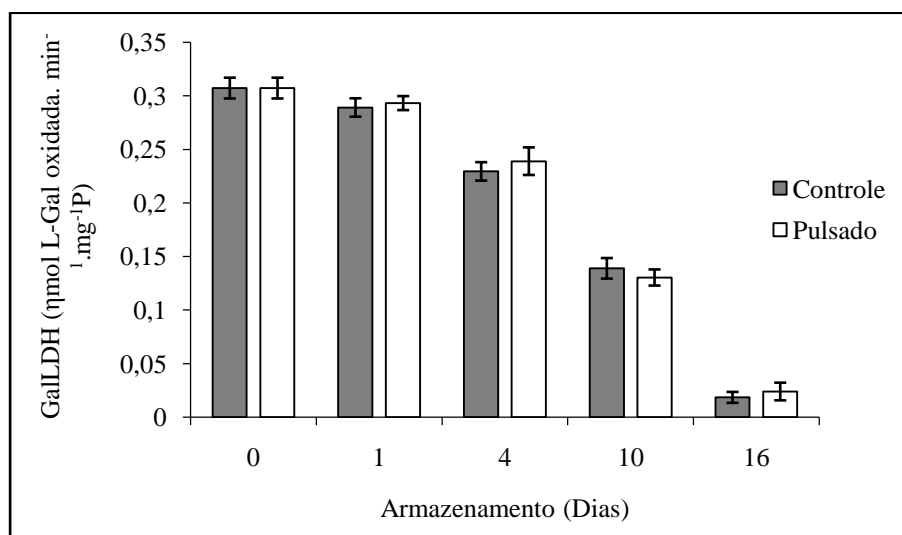


Fonte: dados da pesquisa.

O conteúdo inicial de vitamina C total observado no presente trabalho é semelhante ao verificado por Nasser e Zonta, (2014) em acerolas maduras da cultivar Okinawa que obtiveram valor médio de 25.580,00 mg.Kg<sup>-1</sup>MF cultivadas em Adamantina, SP. O tratamento com LP na fluência de 0,6 J.cm<sup>-2</sup> resultou em conteúdo de vitamina C total significativamente maior (7.037 mg.Kg<sup>-1</sup>) em mangas ‘Tommy Atkins’ *in natura* quando comparadas ao controle (4.412 mg.Kg<sup>-1</sup>) ao final de sete dias de armazenamento a 20 °C (LOPES *et al.*, 2016). Em melões ‘Cantaloupe’ minimamente processados e tratados com luz pulsada (7,8 a 11,7 J.cm<sup>-2</sup>) foi observado menor redução no conteúdo de vitamina C total após 28 dias sob refrigeração (4 °C) em relação às amostras controle (KOH *et al.*, 2016). O estresse luminoso causado pela aplicação de 1 pulso por dia durante 4 dias consecutivos (2,80 J.cm<sup>-2</sup>) proporcionou um acréscimo de 40% no conteúdo de vitamina C total em mangas ‘Tommy Atkins’ minimamente processadas em relação ao controle (LOPES *et al.*, 2017). De acordo com os autores esse aumento está associado ao ciclo ascorbato-glutationa onde atuam as enzimas de reciclagem como a MDHAR e DHAR que favoreceram o incremento de AsA.

A enzima mitocondrial desidrogenase da L-galactona-1,4-lactona (GalLDH) é a principal responsável pela oxidação de L-galactona-1,4-lactona em ascorbato, na última etapa de biossíntese do ácido ascórbico (SMIRNOFF, RUNNING e GATZEK, 2004). A atividade da GalLDH decaiu sem diferença entre os tratamentos durante o armazenamento de acerola, porém esse declínio foi mais acentuado após o 4º dia atingindo 0,18  $\mu\text{mol L-Gal oxidada} \cdot \text{min}^{-1} \cdot \text{mg}^{-1} \text{P}$  nos frutos controle, no 16º dia (Figura 10).

Figura 10 -Atividade da desidrogenase da L-galactona-1,4-lactona (GalLDH) em acerolas ‘Okinawa’ tratadas com luz pulsada ( $0,6 \text{ J.cm}^{-2}$ ) e armazenadas sob refrigeração ( $10 \text{ }^{\circ}\text{C}$ ) por 16 dias. \*Representa uma diferença significativa entre os tratamentos dentro de cada tempo de armazenamento,  $p < 0,05$ .



Fonte: dados da pesquisa.

Esses resultados indicam que a LP não afetou a estrutura e atividade catalítica da GalLDH em acerolas ‘Okinawa’ e que, a maior concentração de vitamina C (Figura 9A) e de AsA (Figura 9B) observada nos frutos tratados não era resultado de uma maior síntese, mas possivelmente de alterações na degradação e reciclagem.

Por outro lado, utilizando a mesma fluência ( $0,6 \text{ J.cm}^{-2}$ ) em acerolas, Rabelo (2016) observou um aumento na atividade da GalLDH logo após a aplicação da LP de  $0,57 \text{ nmolL-Gal oxidada.min}^{-1}.\text{mg}^{-1}\text{P}$  em relação ao controle ( $0,08 \text{ nmolL-Gal oxidada.min}^{-1}.\text{mg}^{-1}\text{P}$ ). O autor explicou que isso resultava da ação direta da LP sobre a atividade da enzima, uma vez que não foram observadas mudanças na expressão dos genes que codificam as enzimas de biossíntese do ácido ascórbico (*GMP*, *GME*, *GGP*, *GDH* e *GalDH*). Esse comportamento diferente do observado aqui pode ser explicado por diferença no estágio de maturação e variedade de acerolas estudadas.

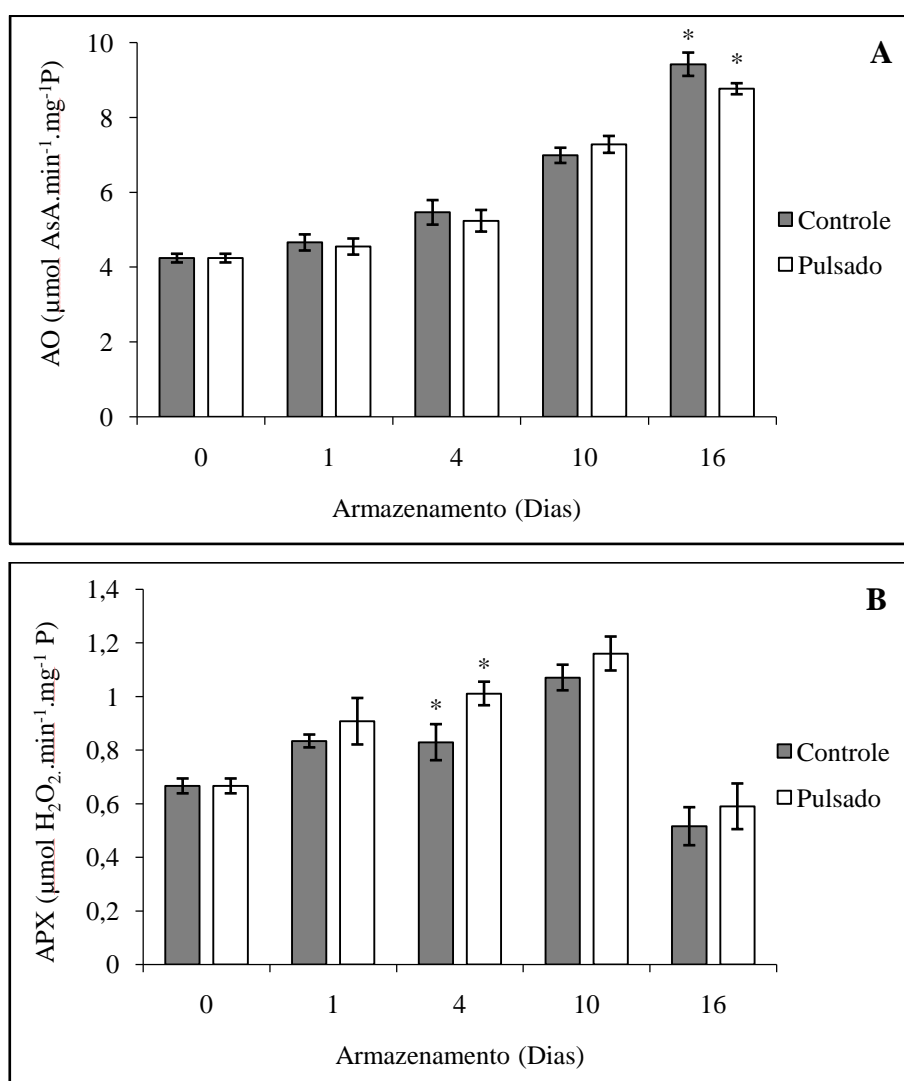
A oxidação enzimática do AsA pode ser mediada por duas enzimas oxidoredutases, a peroxidase do ascorbato (APX) que utiliza duas moléculas de AsA para reduzir  $\text{H}_2\text{O}_2$  à água formando MDHA, enquanto a ascorbato oxidase (AO), na presença de  $\text{O}_2$  catalisa a formação de MDHA (FOYER e NOCTOR, 2011).

Neste estudo, a atividade enzimática da AO (Figura 11A) aumentou durante o armazenamento dos frutos de modo que, ao 16º dia, os frutos controle apresentaram atividade de  $9,42 \text{ } \mu\text{mol AsA.min}^{-1}.\text{mg}^{-1}\text{P}$  sendo estatisticamente maior ( $p < 0,05$ ) que os frutos tratados

com LP, com  $8,76 \mu\text{mol AsA} \cdot \text{min}^{-1} \cdot \text{mg}^{-1}\text{P}$ . Esses resultados explicam que uma menor taxa de degradação enzimática teria contribuído para a maior concentração de vitamina C (Figura 9A) e de AsA (Figura 9B) encontrada nos frutos tratados.

Gomes e Lajolo (2008) verificaram que a atividade da AO se manteve estável durante 10 dias de armazenamento de goiabas ‘Paluma’. Já, em kiwis ‘White’ a atividade da AO reduziu ao longo de 17 dias de armazenamento a  $20 \text{ }^\circ\text{C}$  (JIANG *et al.*, 2018). Para ambos os casos foi observado um acúmulo no conteúdo de AsA associado tanto ao aumento na atividade de síntese da GalLDH quanto na inibição oxidativa da AO durante o período de armazenamento dos frutos.

Figura 11 -Atividade da ascorbato oxidase, AO (A) e da peroxidase do ascorbato, APX (B) em acerolas ‘Okinawa’ tratadas com luz pulsada ( $0,6 \text{ J} \cdot \text{cm}^{-2}$ ) e armazenadas sob refrigeração ( $10 \text{ }^\circ\text{C}$ ) por 16 dias. \*Representa uma diferença significativa entre os tratamentos dentro de cada tempo de armazenamento,  $p < 0,05$ .



Fonte: dados da pesquisa.

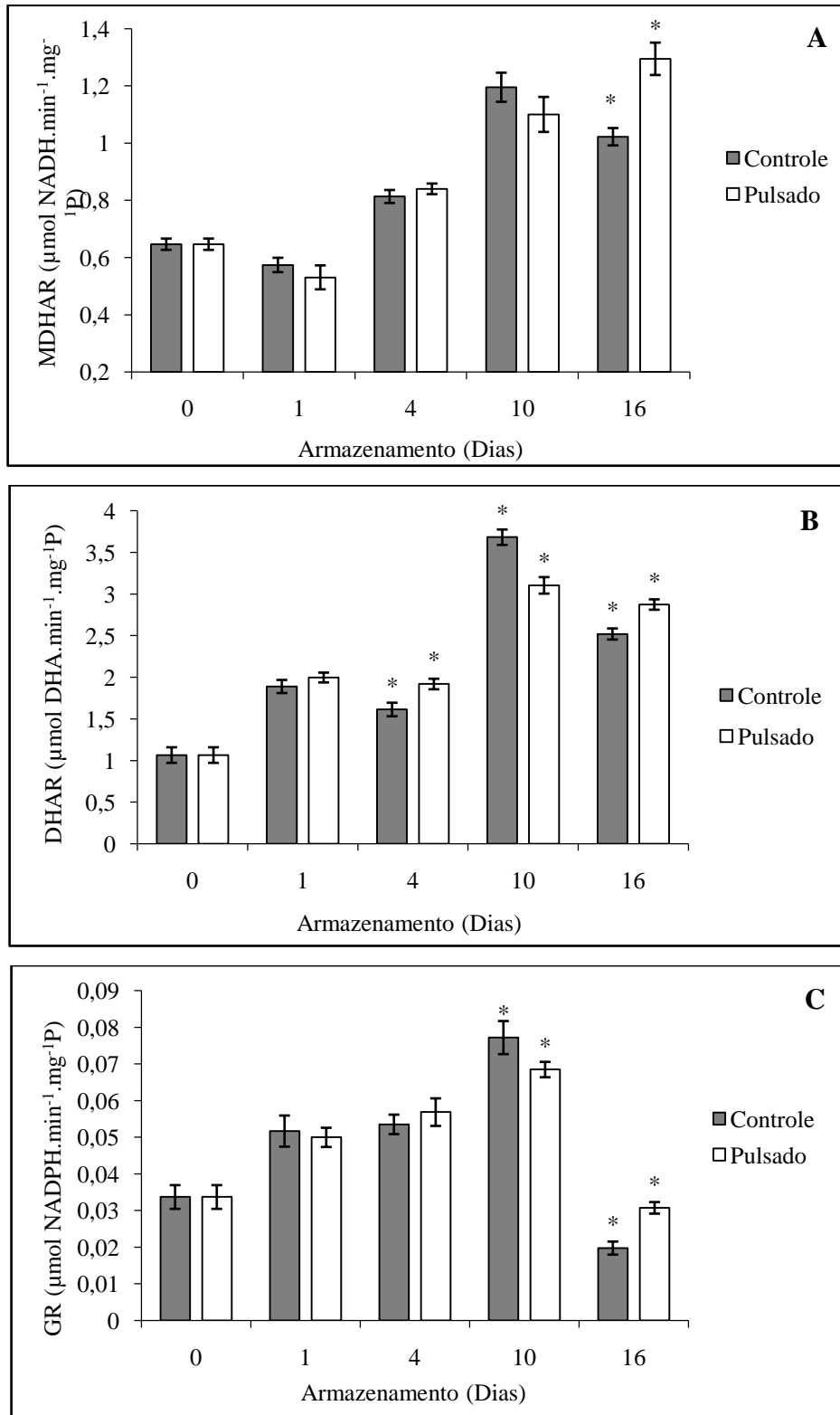
A atividade da peroxidase do ascorbato (APX) apresentou um aumento até 10º dia de armazenamento ( $1,161 \mu\text{mol H}_2\text{O}_2 \cdot \text{min}^{-1} \cdot \text{mg}^{-1}\text{P}$ ) sem diferença significativa entre os tratamentos (Figura 11B) e depois, apresentou um declínio até o 16º dia de armazenamento. O aumento na atividade da APX pode ser reflexo da necessidade de remoção de  $\text{H}_2\text{O}_2$  produzido como subproduto da respiração das acerolas resultando no decréscimo de AsA (Figura 9B) e aumento da forma oxidada da vitamina C, DHA (Figura 9C). Estudos têm mostrado que tratamentos pós-colheita utilizando UV aumentam a taxa de produção de EROs (JIANG *et al.*, 2010; MAZID *et al.*, 2011). As EROs nos tecidos das plantas são controladas por sistemas antioxidantes que estão inter-relacionados, onde o radical superóxido ( $\text{O}_2^-$ ) é convertido a  $\text{H}_2\text{O}_2$  e este pode ser principalmente pela APX (MITTLER, 2002; BARBOSA *et al.*, 2014).

Quando ameixas ‘AmberJewel’ foram submetidas ao estresse por refrigeração a  $3^\circ\text{C}$  por 4 h e depois armazenadas a  $21^\circ\text{C}$ , houve um aumento inicial na atividade da APX concomitante a um decréscimo no conteúdo de ascorbato (SINGH e SINGH, 2013). Lopes *et al.* (2016) concluíram que o tratamento de mangas ‘Tommy Atkins’ com LP ( $0,6 \text{ J} \cdot \text{cm}^{-2}$ ) não influenciou a atividade da APX e que a remoção de  $\text{H}_2\text{O}_2$  estava associada a outra enzima antioxidante. Esses resultados mostram como o estresse por LP é capaz de induzir diferentes vias de sinalização metabólica com respostas diversas na pós-colheita.

A auto-oxidação do AsA ou sua oxidação catalisada pelas enzimas APX e AO gera o radical instável MDHA que pode ser oxidado até DHA. No ciclo ascorbato-glutationa essas formas oxidadas do ascorbato podem ser recicladas por intermédio das enzimas monodehidroascorbato redutase (MDHAR), dehidroascorbato redutase (DHAR) e glutatona redutase (GR) visando à manutenção do *pool* de AsA nas células (FOYER e NOCTOR, 2011).

A atividade das enzimas de reciclagem MDHAR, DHAR e GR (Figuras 12A, B e C, respectivamente) aumentaram até o 10º dia de armazenamento provavelmente como reflexo do aumento na atividade enzimática da AO (Figura 11A) e APX (Figura 11B) que contribuíram para oxidar o AsA gerando os radicais MDHA e DHA. A atividade da MDHAR aumentou até o 16º dia de armazenamento quando os frutos tratados com LP apresentavam valores médios significativamente mais altos ( $p < 0,05$ ) ( $1,29 \mu\text{mol NADH} \cdot \text{min}^{-1} \cdot \text{mg}^{-1}\text{P}$ ) que o controle ( $1,03 \mu\text{mol NADH} \cdot \text{min}^{-1} \cdot \text{mg}^{-1}\text{P}$ ). Esse resultado corrobora com os níveis mais altos de AsA encontrado em frutos tratados (Figura 9B).

Figura 12 -Atividade da monodehidroascorbato redutase (MDHAR, A), dehidroascorbato redutase (DHAR, B) e glutiona redutase (GR, C) em acerolas ‘Okinawa’ tratadas com luz pulsada ( $0,6 \text{ J.cm}^{-2}$ ) e armazenadas sob refrigeração ( $10 \text{ }^{\circ}\text{C}$ ) por 16 dias. \*Representa uma diferença significativa entre os tratamentos dentro de cada tempo de armazenamento,  $p < 0,05$ .



Fonte: dados da pesquisa.

A enzima DHAR utiliza a GSH para regenerar o DHA a AsA. Nesse processo, a glutathiona oxidada (GSSG) é liberada e pode ser convertida novamente a GSH por intermédio da enzima glutathiona redutase (GR). As atividades enzimáticas da DHAR (Figura 12B) e GR (Figura 12C) apresentaram um declínio ao 16º dia do armazenamento, no entanto e apesar desse declínio, o tratamento com LP resultou em uma atividade estatisticamente superior em relação ao controle e, portanto, mais eficiente na regeneração do DHA (Figura 9C). Estes resultados corroboram com o proposto por Rabelo (2016) onde o tratamento com LP ( $0,6 \text{ J.cm}^{-2}$ ) ajudou a preservar o conteúdo de vitamina C em acerolas estimulado pela maior taxa de reciclagem ao longo de sete dias de armazenamento a  $10 \text{ }^\circ\text{C}$ .

Esse comportamento é um indicativo de que uma melhor reciclagem nos frutos tratados com LP contribui para a preservação do *pool* de AsA reduzido (Figura 9B), em relação ao controle, assim, os níveis mais altos de vitamina C (Figura 9A) observados em acerolas tratadas com LP resultam, não de uma maior taxa de síntese, mas de uma menor taxa de degradação enzimática e melhor reciclagem pela via ascorbato-glutathiona.

A regeneração e acumulação de AsA através de uma maior atividade enzimática da MDHAR e DHAR já foi demonstrado em frutos como tomate (STEVENSON *et al.*, 2008), pepino (QIAN *et al.*, 2012), morango (CRUS-RUS *et al.*, 2011), cereja (LIANG *et al.*, 2017) kiwis (LI *et al.*, 2010; YANG *et al.*, 2016; JIANG *et al.*, 2018) dentre outros. Esses relatos indicam a importância da reciclagem intermediada pelo ciclo ascorbato-glutathiona em preservar o *pool* de AsA ativo na célula para o combate ao estresse oxidativo causado por EROs.



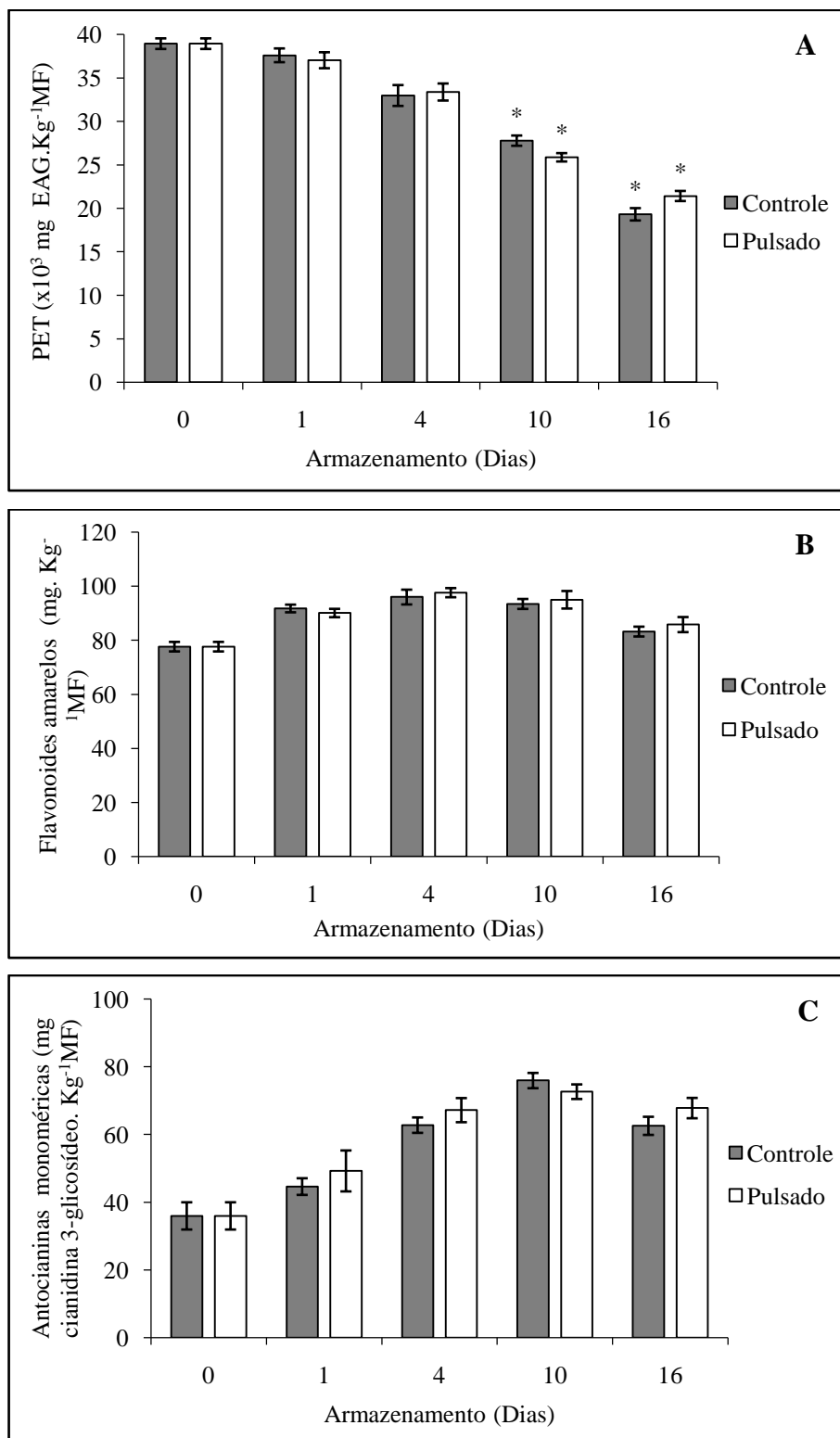
### *Avaliações do metabolismo de compostos fenólicos*

A concentração de polifenóis extraíveis totais (PET) reduziu com o tempo de armazenamento (Figura 13A), no entanto, as acerolas tratadas com LP apresentaram conteúdo significativamente maior ( $p < 0,05$ ), 21.420,48 mg EAG.Kg<sup>-1</sup>MF em relação ao controle, 19.351,95 mg EAG.Kg<sup>-1</sup>MF aos 16 dias.

Na pós-colheita, a LP promoveu a síntese de compostos fenólicos durante o armazenamento de maçãs e tomates (PATARO *et al.*, 2015) e mangas *natura* (LOPES *et al.*, 2016), além de contribuir na sua proteção contra degradação conforme verificado em mangas processadas (SOUZA, 2014) e em acerolas (RABELO, 2016).

A concentração inicial de PET foi de 38.941,14 mg EAG.Kg<sup>-1</sup>MF, bem superior aos reportados por Souza *et al.* (2014) que obtiveram valores médios em acerolas maduras das cultivares Flor Branca (15.616,7 mg EAG.Kg<sup>-1</sup>MF), Flórida Sweet (17.407,5 mg EAG.Kg<sup>-1</sup>MF), e BRS 366 (26.313,4 mg EAG.Kg<sup>-1</sup>MF) cultivadas no estado do Ceará e por Nasser *et al.* (2017) que obtiveram média de 12.778,01 mg EAG.Kg<sup>-1</sup>MF em acerolas 'Okinawa' colhidas maduras na região de Adamantina, estado de São Paulo. Esse maior conteúdo no conteúdo de polifenóis obtidos neste estudo pode estar relacionado a região de cultivo e as práticas culturais tais como adubação, irrigação dentre outros.

Figura 13 -Conteúdo de polifenóis extraíveis totais (A), flavonoides amarelos (B) e antocianinas monoméricas (C) em acerolas ‘Okinawa’ tratadas com luz pulsada ( $0,6 \text{ J.cm}^{-2}$ ) e armazenadas sob refrigeração ( $10 \text{ }^\circ\text{C}$ ) por 16 dias. \*Representa uma diferença significativa entre os tratamentos dentro de cada tempo de armazenamento,  $p < 0,05$ .



Fonte: dados da pesquisa.

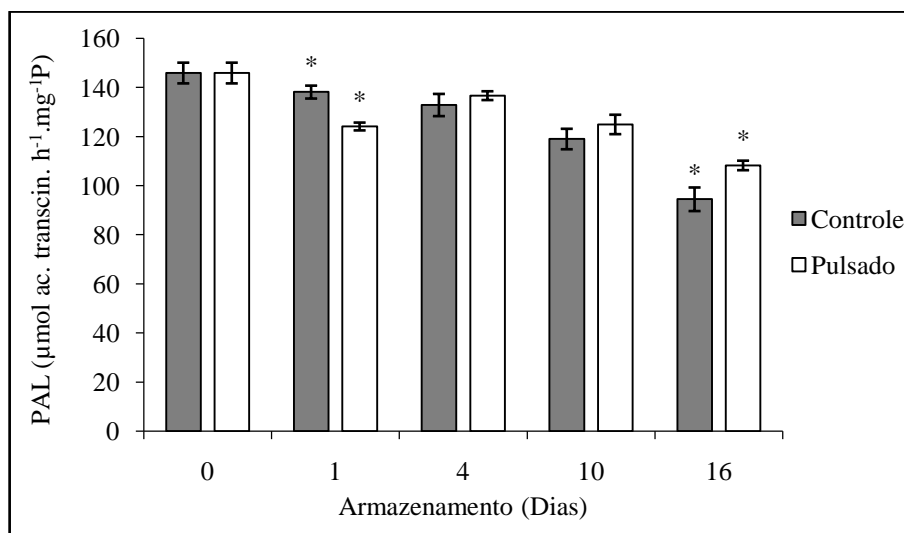
Dentre os compostos fenólicos, estão os flavonoides que incluem as antocianinas sendo os responsáveis pelas cores atrativas nos frutos e vegetais, além de apresentarem atividade antioxidante contra radicais livres (AHERNE e O'BRIEN, 2002; DZIALO *et al.*, 2016). Neste estudo, não foi observado efeito significativo entre os tratamentos ( $p > 0,05$ ) quanto ao conteúdo de flavonoides amarelos e de antocianinas monoméricas ao longo de 16 dias de armazenamento (Figura 13A e 13B). Durante o período de armazenamento o conteúdo de flavonoides amarelos manteve-se estável com o controle apresentando  $83,24 \text{ mg.Kg}^{-1}\text{MF}$  ao final do armazenamento. Já o conteúdo de antocianinas monoméricas aumentou até o 10º dia de armazenamento atingindo  $75,94 \text{ mg}$  de cianidina 3-glicosídeo. $\text{Kg}^{-1}\text{MF}$  nos frutos controle. Esse aumento está associado à síntese de pigmentos antocianínicos como a cianidina responsável pela coloração vermelha das acerolas maduras. De acordo com Hanamura, Uchida e Aoki (2008), na fase final do amadurecimento do fruto da aceroleira, o intenso aumento do conteúdo de antocianinas totais a torna o principal polifenol presente nos frutos maduros.

A glicosilação das antocianinas com mais de um composto define seu caráter monomérico ou polimérico. Em acerolas as antocianinas do tipo cianidina são as principais responsáveis pela pigmentação vermelha (LIMA *et al.*, 2006; ARAÚJO *et al.*, 2007).

Em acerolas, LP ( $0,6 \text{ J.cm}^{-2}$ ) promoveu a síntese de compostos fenólicos da classe dos flavonóis e antocianinas ao longo de 7 dias de armazenamento a  $10 \text{ }^\circ\text{C}$  dos frutos (RABELO, 2016). Essa mesma dose proporcionou um aumento cerca de 21 e 42% nos conteúdos de antocianinas totais e flavonoides amarelos na polpa de mangas 'Tommy Atkins', respectivamente, após sete dias de armazenamento a  $20 \text{ }^\circ\text{C}$  (LOPES *et al.*, 2016). Essas diferenças em relação ao obtido neste estudo reforçam a hipótese da existência de diferentes vias de sinalização quanto aos efeitos da irradiação UV nos tecidos vegetais e na síntese de compostos fenólicos (JIANG *et al.*, 2010).

A fenilalanina amônia liase (PAL) é a principal enzima da biossíntese de compostos fenólicos na via dos fenilpropanoides (TAIZ e ZEIGER, 2017). De acordo com a Figura 14, observa-se um decréscimo na atividade da PAL com o tempo de armazenamento, porém as acerolas tratadas com LP apresentavam atividade significativamente maior ( $p < 0,05$ ) ( $108,27 \text{ } \mu\text{mol ac.transcin.h}^{-1}.\text{mg}^{-1}\text{P}$ ) em relação ao controle ( $94,49 \text{ } \mu\text{mol ac.transcin.h}^{-1}.\text{mg}^{-1}\text{P}$ ), ao fim de 16 dias. Esse resultado justifica os níveis mais altos de compostos fenólicos (Figura 13A) nos frutos tratados, ao final do experimento, demonstrando que a LP estimulou a atividade da PAL e a síntese de fenólicos.

Figura 14 - Atividade da fenilalanina amônia liase (PAL) em acerolas ‘Okinawa’ tratadas com luz pulsada ( $0,6 \text{ J.cm}^{-2}$ ) e armazenadas sob refrigeração ( $10 \text{ }^\circ\text{C}$ ) por 16 dias. \*Representa uma diferença significativa entre os tratamentos dentro de cada tempo de armazenamento,  $p < 0,05$ .

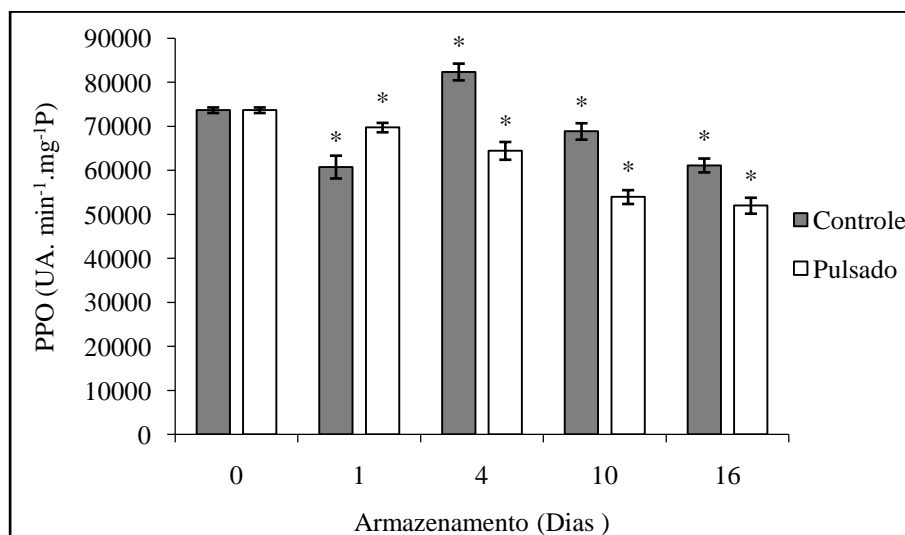


Fonte: dados da pesquisa.

O tratamento com LP ( $0,6 \text{ J.cm}^{-2}$ ) também resultou em uma maior biossíntese de compostos fenólicos em mangas e acerolas através do estímulo a atividade da PAL (LOPES *et al.*, 2016; RABELO, 2016). No entanto, Charles *et al.* (2013) verificaram que o tratamento com luz pulsada ( $8 \text{ J.cm}^{-2}$ ) não proporcionou aumento na atividade da PAL em mangas minimamente processadas. Segundo González-Aguillar *et al.* (2010) a resposta ao estresse no metabolismo secundário é influenciada por fatores como o perfil genético do material, intensidade da radiação UV, época de colheita, estágio fisiológico de maturação e as condições de armazenamento.

O conteúdo de compostos fenólicos é influenciado pela síntese assim como pela degradação que pode ocorrer tanto por oxidação química quanto pela atuação de enzimas oxidoreduzases, a exemplo da polifenoloxidase (PPO) (YORUK e MARSHALL, 2003; YAN *et al.*, 2013). Neste estudo a atividade da PPO decaiu com o tempo de armazenamento passando de  $73696,47 \text{ UA.min}^{-1}.\text{mg}^{-1}\text{P}$  no dia zero para  $53961,54 \text{ UA.min}^{-1}.\text{mg}^{-1}\text{P}$  após 16 dias em ambos os tratamentos (Figura 15), porém essa atividade foi significativamente menor ( $p < 0,05$ ) nos frutos tratados com LP em relação ao controle durante todo o período de armazenamento. Essa menor taxa de degradação associada à maior síntese (Figura 14) explica o conteúdo estatisticamente superior de fenólicos (Figura 13A) dos frutos tratados com LP.

Figura 15 -Atividade da polifenoloxidase (PPO) em acerolas ‘Okinawa’ tratadas com luz pulsada ( $0,6 \text{ J.cm}^{-2}$ ) e armazenadas sob refrigeração ( $10 \text{ }^\circ\text{C}$ ) por 16 dias. \*Representa uma diferença significativa entre os tratamentos dentro de cada tempo de armazenamento,  $p < 0,05$ .



Fonte: dados da pesquisa.

De acordo com Manzocco *et al.* (2011), o tratamento com UV-C pode causar a desnaturação parcial ou total de enzimas, em particular a PPO na polpa dos frutos justificando a menor atividade da PPO nos frutos tratados com LP. Além disso, a atividade da PPO é também influenciada pela manutenção da integridade dos tecidos dos frutos ao longo do armazenamento, isto é, limitando o encontro da enzima com o seu substrato.

### ***Análise histológica das acerolas tratadas com LP***

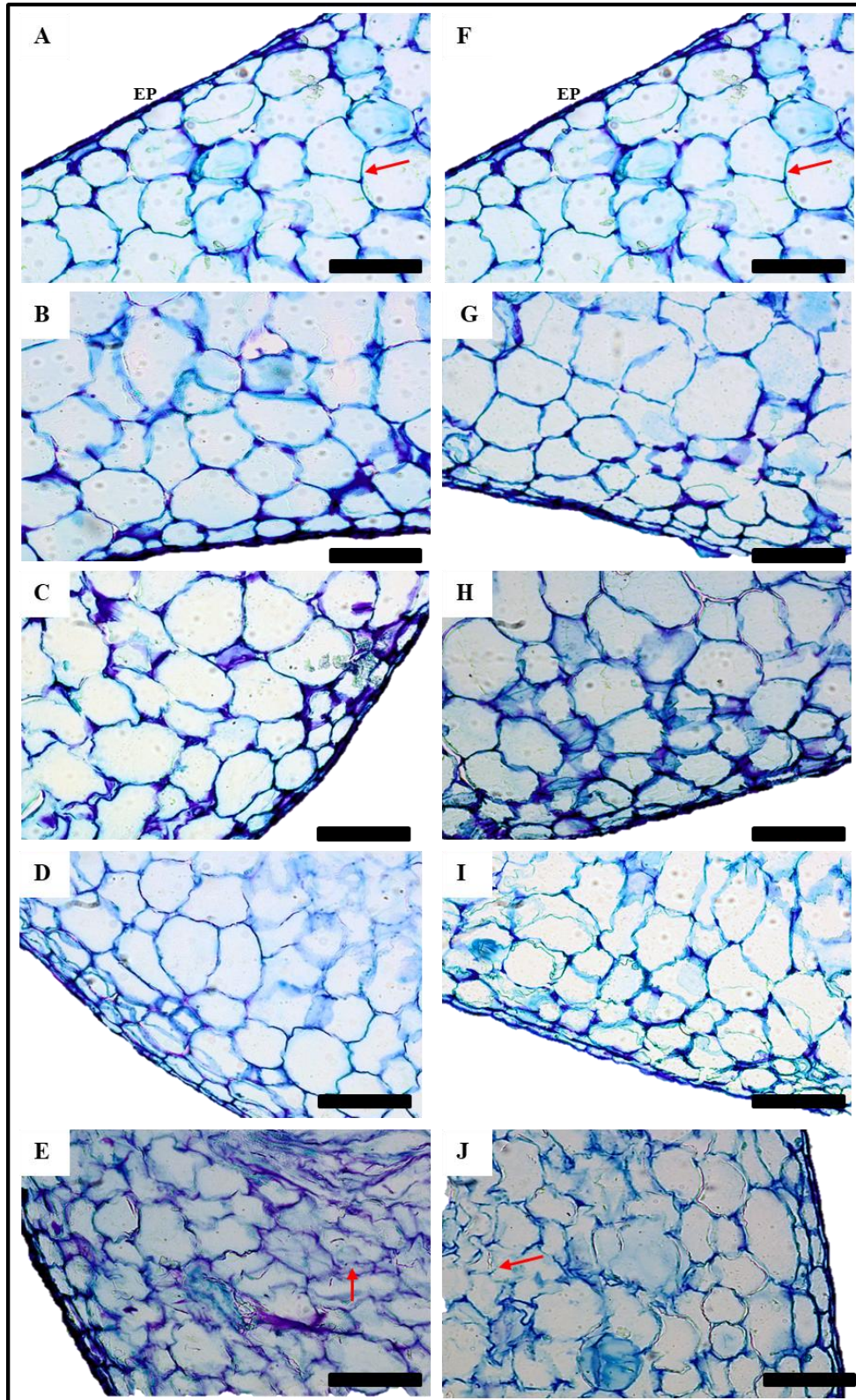
A análise histológica dos frutos corados com Azul de Toluidina (Figura 16) corou a parede celular devido à presença de pectina evidenciando o epicarpo com parede celular fina e um mesocarpo constituído por células amplas e sem espaços intercelulares. De modo geral, o tratamento com LP ( $0,6 \text{ J.cm}^{-2}$ ) manteve as células mais túrgidas e com formato melhor definido ao final de 16 dias quando comparadas aos frutos controle (Figuras 16 E e 16 J, respectivamente). O epicarpo, identificado através da sigla (EP), se mantém estruturado durante todo o período de armazenamento em ambos os tratamentos (Figuras 16).

Com relação ao mesocarpo, este foi significativamente afetado pelo tempo de armazenamento e o tratamento com LP. Aos 10 dias de armazenamento (Figuras 16 D e 16 I), as células mais internas do mesocarpo apresentavam um início de desorganização tecidual caracterizada pela perda da turgescência, sugerindo que o processo de amadurecimento da acerola ocorre da polpa para a casca.

Já, aos 16 dias (Figuras 16 E e 16 J) observa-se que as células mais internas do mesocarpo apresentam-se plasmolisadas provavelmente resultado do avanço do processo de amadurecimento com a dissolução de substâncias pécnicas e a quebra de ligações cruzadas que compõem a parede celular. No entanto, a formação de uma metacromasia, isto é, a mudança da tonalidade azul para o roxo nas células do tratamento controle (Figura 16 E) é um indicativo de uma maior disponibilidade de substâncias pécnicas se ligando ao corante, fato este não observado no tratamento com LP (Figura 16 J), além disso, as células do mesocarpo localizadas próximas a casca (epicarpo) ainda apresentam aspecto túrgido, com formato definido e parede celular bem delimitada em relação às células dos frutos controle sendo um indício que a LP retardou a degradação de substâncias que compõem a parede celular nesses frutos.

Um estudo histológico em amostras *in natura* de mangas ‘Tommy Atkins’ mostrou que o tratamento com LP na mesma dose utilizada nesse estudo ( $0,6 \text{ J.cm}^{-2}$ ) não promoveu qualquer efeito na estrutura (casca e polpa) que comprometesse a qualidade dos frutos ao longo de 7 dias de armazenamento a  $20 \text{ }^{\circ}\text{C}$  quando comparada ao controle (LOPES *et al.*, 2016). Outra análise histológica realizada em melões ‘Cantaloupe’ minimamente processados e tratados com  $0,9 \text{ J.cm}^{-2}$  de LP aplicada a cada 48 horas resultou em amostras com paredes celulares delimitadas e células túrgidas em relação às células colapsadas e achatadas do controle ao final de 28 dias de armazenamento a  $4 \text{ }^{\circ}\text{C}$  (KOH *et al.*, 2016).

Figura 16 -Histologia de acerolas ‘Okinawa’ armazenadas sob refrigeração (10 °C) e coradas com azul de Toluidina aos A) 0; B) 1; C) 4; D) 10 e E) 16 dias para os frutos controle e F) 0; G) 1; H) 4; I) 10 e J) 16 dias para os frutos tratados com LP (0,6 J.cm<sup>-2</sup>). Epicarpo (EP); → (parede celular). Barra: 200 μm.



Fonte: dados da pesquisa.

## 5 CONCLUSÕES

O tratamento com luz pulsada ( $0,6 \text{ J.cm}^{-2}$ ) foi eficaz na preservação de compostos bioativos além de contribuir para a manutenção da integridade de acerolas ‘Okinawa’ durante 16 dias de armazenamento refrigerado.

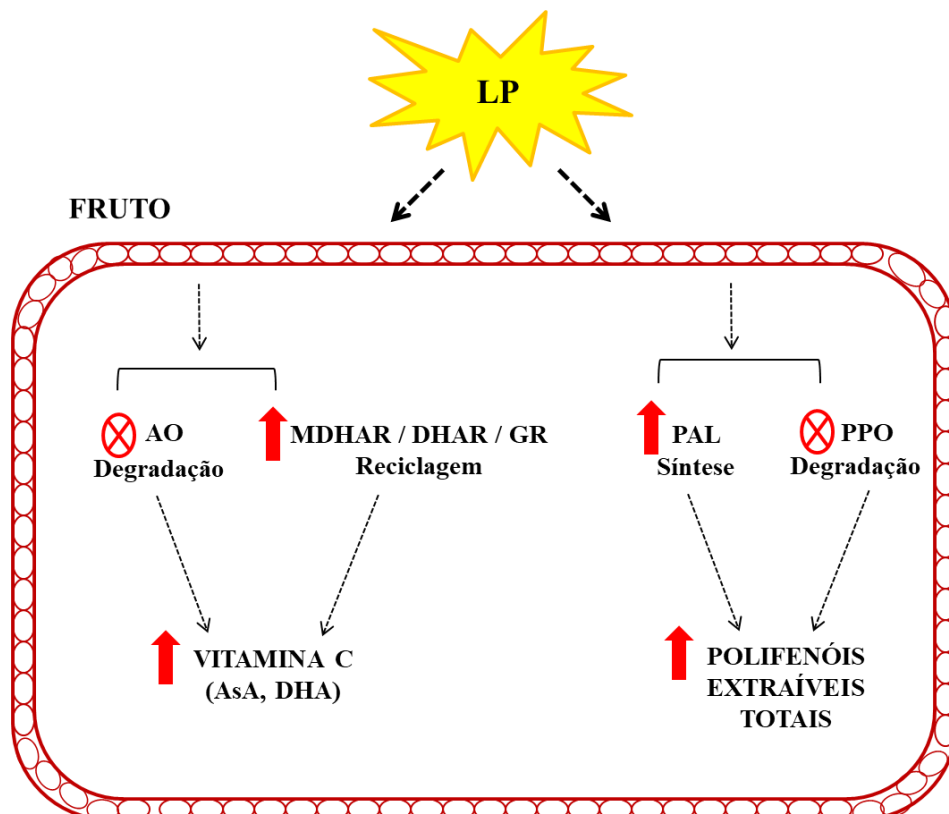
Quanto ao metabolismo de vitamina C, a LP reduziu sua oxidação enzimática, além de estimular a reciclagem resultando em um maior conteúdo de vitamina C total, ao final de 16 dias de armazenamento.

No metabolismo de compostos fenólicos, a LP preservou os níveis de polifenóis extraíveis totais através de uma maior atividade de síntese da PAL e inibição da atividade de degradação da PPO.

A análise histológica mostrou que a LP promoveu uma manutenção das células do epicarpo e mesocarpo contribuindo para a integridade dos frutos durante o armazenamento.

Assim, os efeitos da aplicação pós-colheita da LP em acerolas ‘Okinawa’ podem ser visualizados na Figura 17.

Figura 17 -Esquema proposto para explicar o mecanismo de ação da LP sobre o metabolismo de vitamina C e de compostos fenólicos durante o armazenamento refrigerado ( $10^\circ\text{C}$ ) de acerola ‘Okinawa’.





## REFERÊNCIAS

- ABIDA, J.; RAYEES, B.; MASOODI, F. A. Pulsed light technology: a novel method for food preservation. **International Food Research Journal**, Malásia, v. 21, n. 3, p. 839-848, 2014.
- ADRIANO, E., LEONEL, S., EVANGELISTA, R.M. Fruit quality of Barbados cherry trees cv. Olivier in two stages of maturity. **Revista Brasileira de Fruticultura**, Jaboticabal, v. 33, n.1, p. 541-545, 2011.
- AHERNE, S.A.; O'BRIEN, N.M. Dietary flavonols: Chemistry, food content, and metabolism. **Nutrition**, Roma, v. 18, p. 75-81, 2002.
- AGIUS, F. *et al.* Engineering increased vitamin C levels in plants by overexpression of a D-galacturonic acid reductase. **National Biotechnology**, Zimbábue, v. 21, p. 177-181, 2003.
- AGUERO, M. V. *et al.* Surface decontamination of spinach by intense pulsed light treatments: Impact on quality attributes. **Postharvest Biology and Technology**, Amsterdã, v. 121, p. 118–125, 2016.
- AGUILÓ-AGUAYO, I. A. B. *et al.* Impact of pulsed light on colour, carotenoid, polyacetylene and sugar content of carrot slices. **Innovative Food Science and Emerging Technologies**, Washington, v. 42, p. 49-55, 2017.
- ALAMED, J. *et al.* Relationships between free radical scavenging and antioxidant activity in foods. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, Califórnia, v. 57, n. 7, p. 2969-2976, 2009.
- ALMEIDA, J. I. L.; LOPES, J. G. V.; OLIVEIRA, F. M. M. **Produtor de acerola**. Fortaleza: Edições Demócrito Rocha, Instituto Centro de Ensino Tecnológico, 2002. 40p.
- APPERT, C. *et al.* Propriedades estruturais e catalíticas das quatro isoenzimas fenilalanina amônia-liase da salsa (*Petroselinum crispum* Nym). **Revista Européia de Bioquímica**, Coimbra, v. 225, n. 1, p. 491-499, 1994.
- ARAÚJO, P. G. L. *et al.* Beta-caroteno, ácido ascórbico e antocianinas totais em polpa de frutos de aceroleira conservada por congelamento durante 12 meses. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, Campinas, v. 27, n. 1, p. 104-107, 2007.
- ARAÚJO, P. G. L. *et al.*  $\beta$ -Carotene, ascorbic acid and total anthocyanins in fruit pulp of the acerola tree conserved by the cold for 12 months. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, Campinas, v. 27, n. 1, p. 104-107, 2009.
- ARUOMA, O. I. Free radicals, antioxidants and international nutrition. **Asia Pacific Journal of Clinical Nutrition**, Sidney, v. 8, n. 1, p. 53–63, 1999.
- ASADA, K. Ascorbate peroxidase hydrogen peroxide scavenging enzyme in plants. **Physiologia Plantarum**, Escandinávia, v. 85, n. 2, p. 235-241, 1992.

- BABBAR, N.*et al.* Influence of different solvents in extraction of phenolic compounds from vegetable residues and their evaluation as natural sources of antioxidants. **Journal Food Science and Technology**, Amsterdã, v. 51, p. 2568-2575, 2014.
- BANHEGYI, G.*et al.* Ascorbate metabolism and its regulation in animals. **Free Radical Biology Medicine**, Londres, v. 23, p. 793-803, 1997.
- BARBOSA, M. R.*et al.* Plant generation and enzymatic detoxification of reactive oxygen species. **Ciência Rural**, Santa Maria, v. 44, n. 3, p. 453-460, 2014.
- BERGMEYER, H. U.; GRASSL, M.; WALTER, H. E. **In methods of enzymatic analysis** (Bergmeyer, H. U. ed.) 3. ed., Volume II, p. 157-158, 1983.
- BERTONCELLI, D. J. *et al.* Physicochemical analyzes of garlic subjected to ultraviolet light (UV-C) and to modified atmosphere. **Applied Research and Agrotecnology**, Guarapuava, v. 7, n. 2, p. 121-129, 2014.
- BETAGLION, G. A.*et al.* Determination of the phenolic composition from Brazilian tropical fruits by UHPLC – Ms/Ms. **Food Chemistry**, Amsterdã, v. 180, p. 280-287, 2015.
- BHAVYA, M. L.; HEBBAR, H. U. Review: Pulsed light processing of foods for microbial safety. **Food Quality and Safety**, Londres, v. 1, n. 4, p. 1-15, 2017.
- BICAS, J. L.*et al.* Volatile constituents of exotic fruits from Brazil. **Food Research International**, Amsterdã, v. 44, n. 3, p. 1843-1855, 2011.
- BLEEG, H. S.; CHRISTENSEN, F. Biosynthesis of ascorbato in yeast. Purification of L-galactono-1,4-lactone oxidase with properties different from mammalian L-gulonolactone oxidase. **European Journal Biochemistry**, Amsterdã, v. 127, p. 391-396, 1982.
- BRADFORD, M. A. A rapid and sensitive method for the quantification of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dyebinding. **Analytical Biochemistry**, Amsterdã, v. 72, n. 1, p. 248-254, 1976.
- CAETANO, P. K.; DAIUTO, É. R.; VIEITES, R. L. Características físico-químicas e sensorial de geleia elaborada com polpa e suco de acerola. **Brazilian Journal of Food Technology**, Campinas, v.15, n.3, p.191-197, 2012.
- CALGARO, M.; BRAGA, M. B. A cultura da acerola. - 3. ed. rev. ampl. - Brasília, DF: Embrapa, 2012, 144p.
- CARDELLO, H. M. A. B.; CARDELLO, L. Teor de vitamina c, atividade de ascorbato oxidase e perfil sensorial de manga (*Mangiferaíndica* L.) var. Haden, durante o amadurecimento. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, Campinas, v. 18, n.2, p. 211-217, 1998.
- CARRINGTON, C.M.S.; KING, R.A.G. Fruit development and ripenig in Barbados cherry (*Malpighia emarginata* DC). **Scientia Horticulturae**, Amsterdã, v.92, n.1, p.1-7, 2002.

- CHARLES, F.*et al.* Pulsed light treatment as new method to maintain physical and nutritional quality of fresh-cut mangoes. **Innovative Food Science and Emerging Technologies**, Amsterdã, v. 18, p. 190-195, 2013.
- CHEN, J.; WANG, X. Experimental instruction of plant physiology. **South China University of Technology Press**, Guangzhou, p. 124, 2002.
- CHITARRA, M. I. F.; CHITARRA, A. B. **Pós-colheita de frutos e hortaliças: fisiologia e manuseio**. 2. ed. Lavras: Editora da UFLA, 2005. 783 p.
- CLOSE, D. C.; MCARTHUR, C. Rethinking the role of many plant phenolics protection from photo damage not herbivores. **Oikos**, Noruega, v. 99, n.1, p.166-172, 2002.
- COCETTA, G.*et al.* Ascorbic acid metabolism during bilberry (*Vaccinium myrtillus* L.) fruit development. **Journal of Plant Physiology**, Amsterdã, v. 169, n. 11, p. 1059-1065, 2012.
- CONCELLÓN, A.; AÑÓN, M.C.; CHAVES, A.R. Characterization and changes in polyphenol oxidase from eggplant fruit (*Solanum melongena* L.) during storage at low temperature. **Food Chemistry**, Amsterdã, v. 88, p. 17-24, 2004.
- COOPER, C. E.*et al.* The noninvasive measurement of absolute cerebral deoxy haemoglobin concentration and mean optical path length in the neonatal brain by second derivative near infrared spectroscopy. **Pediatric Research**, Nova York, v. 39, p. 32-38, 1996.
- CRUZ-RUS, E.*et al.* Regulation of L-ascorbic acid content in strawberry fruits. **Journal Experimental Botany**, Londres, v. 62, p. 4191-4201, 2011.
- DELVA, L.; GOODRICH, R. Anthocyanin identification, vitamin C content, and antioxidant capacity of acerola (*Malpighia emarginata* DC) juices. **Proceedings Florida State Horticulture Society**, Flórida, v. 123, p. 223-227, 2010.
- DEMBITSKY, V. M.*et al.* Review. The multiple nutrition properties of some exotic fruits: biological activity and active metabolics. **Food Research International**, Amsterdã, v. 44, p. 1671-1701, 2011.
- DOGAN, S.*et al.* Characterization and purification of polyphenol oxidase from artichoke (*Canardscolymus* L.). **Journal Agricola Food Chemistry**, Amsterdã, v. 53, p. 776-785, 2005.
- DUARTE-MOLINA, F.*et al.* Storage quality of strawberry fruit treated by pulsed light: Fungal decay, water loss and mechanical properties. **Innovative Food Science and Emerging Technologies**, Amsterdã, v.34, p. 267-274, 2016.
- DUNN, J.; OTT, T.; CLARK, W. Pulsed-light treatment of food and packaging. **Food Technology**, Índia, v. 49, n. 45, p. 95-98, 1995.
- DZIALO, M.*et al.* The Potential of plant phenolics in prevention and therapy of skin disorders. **International Journal of Molecular Sciences**, Amsterdã, v. 17, n. 160, p. 1-41, 2016.

- EDREVA, A. *et al.* Stress-protective role of secondary metabolites: Diversity of functions and mechanisms. **Genetic Applied Plant Physiology**, Bulgária, v. 34, p. 67-78, 2008.
- ELMNASSER, N. *et al.* Pulsed-light system as a novel food decontamination technology: A review. **Canadian Journal of Microbiology**, Toronto, v. 53, p. 813-821, 2007.
- EL-SHORA, H. M. Properties of phenylalanine ammonia-lyase from Marrow cotyledons. **Plant Science**, Londres, v. 162, p. 1-7, 2002.
- CALGARO, M.; BRAGA, M. B. **A cultura da acerola**. 3. ed. rev. ampl. Brasília, DF, 2012. 144 p.
- ERGUN, A.; *et al.* Barbados Kirazi (*Malpighia emarginata* DC.). **Turkish Journal of Agricultural and Natural Sciences**, Turquia, v. 1, n. 2, p. 180-187, 2014.
- ESCRIBANO, J. *et al.* Characterization of monophenolase activity of table beet polyphenol oxidase. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 45, p. 4209-4214, 1997.
- FACHI, L. R. *et al.* Qualidade e correlação dos parâmetros físico-químicos dos frutos de cultivares de acerola. **Enciclopédia Biosfera**, Goiânia, v. 13 n. 24, p. 890-897, 2016.
- FARIAS M. *et al.* Caracterização físico-química de filmes comestíveis de amido adicionado de acerola (*Malpighia emarginata* DC). **Revista Química Nova**, São Paulo v. 35, n. 3, p. 546-552, 2012.
- FDA- FOOD AND DRUG ADMINISTRATION. (1996). **Pulsed light for the treatment of food**, 21CFR179.4.
- FERRER, J. L. *et al.* Structure and function of enzymes involved in the biosynthesis of phenylpropanoids. **Plant Physiology Biochemistry**, Nova York, v. 46, p. 356-370, 2008.
- FIGUEIREDO NETO, A. *et al.* Determinação de vitamina C e avaliação físico-química em três variedades de acerola cultivadas em Petrolina-PE. **Nucleus**, Ituverava, v. 11, n. 1, p. 83-92, 2014.
- FOTI, M. *et al.* Antioxidant activity of phenolic meroditerpenoids from marine algae. **Journal of Photochemistry and Photobiology**, Amsterdã, v. 26, n. 2, p.159-164, 1994.
- FOTOPOULOS, V. *et al.* Altered stomatal dynamics in ascorbate oxidase over-expressing tobacco plants suggest a role for dehydroascorbate signalling. **Journal of Experimental Botany**, Amsterdã, v. 59, n. 4, p. 729-737, 2008.
- FOYER, C. H.; HALLIWELL, B. The presence of glutathione and glutathione reductase in chloroplasts: a proposed role in ascorbic acid metabolism. **Planta**, Londres, v. 133, n. 1, p. 21-25, 1976.
- FOYER, C. H.; NOCTOR, G. Ascorbate and glutathione: the heart of the redox hub. **Plant Physiology**, Amsterdã, v. 155, p. 2-18, 2011.
- FRANCIS, F. J. Analysis of anthocyanins. In: MARKAKIS, P. (ed.). **Anthocyanins as food colors**. New York: Academic Press, 1982. p.181-207.

FREITAS, C. A. S. *et al.* Acerola: produção, composição, aspectos nutricionais e produtos. **Revista Brasileira de Agrociência**, Pelotas, v. 12, n. 4, p. 395-400, 2006.

GEST, N.; GAUTIER, H.; STEVENS, R. Ascorbate as seen through plant evolution: the rise of a successful molecule. **Journal of Experimental Botany**, Amsterdã, v. 64, p. 33-53, 2013.

GIUSTI, M. M.; WROLSTAD, R. E. **Anthocyanins. Characterization and Measurement with UV-Visible Spectroscopy**. In: Wrolstad, R.E. (Ed.). *Current Protocols in Food Analytical Chemistry*. New York: John Wiley & Sons, 2001. Unit. F1.2.1-13.

GOMEZ, M. L. P. A.; LAJOLO, F. M. Ascorbic acid metabolism in fruits: activity of enzymes involved in synthesis and degradation during ripening in mango and guava. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, Índia, v. 88, p. 756-762, 2008.

GÓMEZ, P. L. *et al.* Effect of pulsed light combined with an antibrowning pretreatment on quality of fresh cut apple. **Innovative Food Science and Emerging Technologies**, Amsterdã, v. 16, p. 102-112, 2012.

GONZALEZ-AGUILAR, G. A. *et al.* Improvement of the antioxidant status of tropical fruits as a secondary response to some postharvest treatments. **Trends Food Science Technology**, Amsterdã, v. 21, n. 10, p. 475-482, 2010.

GREEN, S.; BASARAN, N.; SWANSON, B. **Food preservation techniques**. In Zenthen, P. and Bogh-Sorenson, L. (Eds). Washington, United States of America: Woodhead Publishing House, 2005, 365 p.

GUERRERO-BELTRÁN, J. A.; BARBOSA-CÁNOVAS, G. V. Review: Advantages and limitations on processing foods by UV light. **Food Science and Technology International**, Amsterdã, v. 10, p. 137-147, 2004.

GUERRERO, R. F. *et al.* Induction of stilbenes in grapes by UV-C: Comparison of different subspecies of *Vitis*. **Innovative Food Science and Emerging Technologies**, Amsterdã, v. 11, p. 231-238, 2010.

HAMINIUK, C. W. *et al.* Phenolic compounds in fruits: an overview. **International Journal of Food Science and Technology**, Amsterdã, v. 47, 2023-2044, 2012.

HANAMURA, T.; HAGIWARA, T.; KAWAGISHI, H. Structural and functional characterization of polyphenols isolated from acerola (*Malpighia emarginata* DC) fruit. **Bioscience, Biotechnology and Biochemistry**, Tóquio, v. 69, n. 2, p. 280-286, 2005.

HANAMURA, T.; USHIDA, E.; AOKI, H. Changes of the composition in acerola (*Malpighia emarginata* D.C) fruit in relation to cultivar, growing region and maturity. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, Amsterdã, v. 88, p. 1813-1820, 2008.

IOANNIDI, E. *et al.* Expression profiling of ascorbic acid-related genes during tomato fruit development and ripening and in response to stress conditions. **Journal of Experimental Botany**, Amsterdã, v. 60, p. 663-678, 2009.

JACOMINO, A. P. Transformações Bioquímicas em Produtos Hortícolas após a Colheita. In.: KOBLITZ, M. G. B. **Bioquímica de Alimentos: Teoria e Aplicações Práticas**. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2008. 242 p.

JIANG, T. *et al.* Influence of UV-C treatment on antioxidant capacity, antioxidant enzyme activity and texture of postharvest shiitake (*Lentinus edodes*) mushrooms during storage. **Postharvest Biology and Technology**, Amsterdã, v.56, p. 209-215, 2010.

JIANG, Z. Y. *et al.* L-ascorbic acid metabolism in an ascorbate-rich kiwifruit (*Actinidia chinensis* Benth.) cv. 'White' during postharvest. **Plant Physiology and Biochemistry**, Amsterdã, v.124, p. 20-28, 2018.

JUNQUEIRA, M. S. *et al.* Biochemical and bioactive phytonutrients changes in tissues of two cultivars of fresh-cut cassava in stick form under refrigerated storage. **Ciência Rural**, Santa Maria, v. 44, n. 7, p.1284-1290, 2014.

KARNOVSKY, M. J. A formaldehyde-glutaraldehyde fixative of high osmolarity for use in electron microscopy. **Journal Cell Biology**, Califórnia, v. 27, p. 137, 1965.

KHADEMI, O. *et al.* Effect of UV-radiation on postharvest physiology of persimmon fruit (*Diospyros kaki* Thunb.) cv. 'Karaj' during storage at cold temperature. **International Food Research Journal**, Amsterdã, v. 20, p. 247-253, 2013.

KOH, P. C. *et al.* Repetitive pulsed light treatment at certain interval on fresh-cut cantaloupe (*Cucumis melo* L. reticulatus cv. Glamour). **Innovative Food Science and Emerging Technologies**, Amsterdã, v. 36, p. 92-103, 2016.

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

KULBAT, K. The role of phenolic compounds in plant resistance. **Biotechnology Food Science**, Roma, v. 80, n. 2, p. 97-108, 2016.

LARRAURI, J. A.; RUPÉREZ, P.; SAURA-CALIXTO, F. Effect of drying temperature on the stability of polyphenols and antioxidant activity of red grape pomace peels. **Journal Agricola Food Chemistry**, Milão, v. 45, p. 1390-1393.1997.

LIANG, D. *et al.* Ascorbic acid metabolism during sweet cherry (*Prunus avium*) fruit development. **Plos One**, Malásia, v. 12, n. 2, 1-13, 2017.

LI, M. *et al.* Ascorbate biosynthesis during early fruit development is the main reason for its accumulation in kiwi. **Plos One**, Malásia, v. 5, 142-148, 2010a.

LI, M. *et al.* Ascorbic acid formation and profiling of genes expressed in its synthesis and recycling in apple leaves of different ages. **Plant Physiology Biochemistry**, Amsterdã, v. 48, p. 216-224, 2010.

LIMA, V. L. A. G. *et al.* Identificação de antocianidinas em acerolas do banco ativo de germoplasma da Universidade Federal Rural de Pernambuco. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, Campinas, v. 26, n. 4, p. 927-935, 2006.

LIMA, P. C. C. *et al.* Characterization and evaluation of fruits of West Indian cherry. **Revista Brasileira de Fruticultura**, Jaboticabal, v. 36, n. 2, p.550-555, 2014.

LIN, D. *et al.* An overview of plant phenolic compounds and their importance in human nutrition and management of type 2 diabetes. **Molecules**, Pequim, v. 21, n. 3, p. 1374-1392, 2016.

LINSTER, C.; CLARKE, S. L-Ascorbate biosynthesis in higher plants: the role of VTC2. **Trends in Plant Science**, Tóquio, v. 13, p. 567-573, 2008.

LIU, H. *et al.* Cold storage duration affects litchi fruit quality, membrane permeability, enzyme activities and energy charge during shelf time at ambient temperature. **Postharvest Biology and Technology**, Amsterdã, v. 60, p. 24-30, 2011.

LIU, F. *et al.* Higher transcription levels in ascorbic acid biosynthetic and recycling genes were associated with higher ascorbic acid accumulation in blueberry. **Food Chemistry**, Amsterdã, v. 188, p. 399-405, 2015.

LOCATO, V.; CIMINI, S.; DE GARA, L. Strategies to increase vitamin C in plants: from plant defense perspective to food biofortification. **Frontiers in Plant Science**, Oslo, v. 4, n. 3, p. 1-12, 2013.

LOGAN, F. J. *et al.* The terminal step in vitamin C biosynthesis in *Trypanosomacruzi* is mediated by a FMN-dependent Galactonolactone oxidase. **Biochemistry Journal**, Amsterdã, v. 407, p. 419-426, 2007.

LOPES, M. M. A. *et al.* Low fluence pulsed light enhanced phytochemical content and antioxidant potential of 'Tommy Atkins' mango peel and pulp. **Innovative Food Science & Emerging Technologies**, Amsterdã, v. 33, p. 216-224, 2016.

LOPES, M. M. A. *et al.* The influence of pulsed light exposure mode on quality and bioactive compounds of fresh-cut mangoes. **Journal Food Science Technology**, Índia, v. 54, n. 8, p. 2332-2340, 2017.

LUO, W. *et al.* Antioxidant and ant proliferative capacities of phenolics purified from *Phyllanthusemblica* L. fruit. **Food Chemistry**, Amsterdã, v. 126, p. 277-282, 2011.

MACIEL, M. I. S. *et al.* Caracterização físico-química de frutos de genótipos de aceroleira (*Malpighia emarginata* DC). **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, Campinas, v. 30, n. 4, p. 865-869, 2010.

MAGED, E. A.; MOHAMED, A.; AYMAN, H. A. E. **Pulsed electric fields for food processing technology**. This is an open access chapter distributed under the terms of the creative commons Attribution. 2012. online at .2012.  
<http://www.intechopen.com/download/get/type/pdfs/id/38363>.

MANICA, I. Clima e Solo. In: MANICA, I.; ICUMA, I. M.; FIORAVANÇO, J. C.; PAIVA, J. R.; PAIVA, M. C.; JUNQUEIRA, N. T. V. **Acerola: Tecnologia de produção, pós-colheita, congelamento, exportação, mercados**. Porto Alegre: Cinco Continentes, 2003, 397 p.

- MANZOCCO, L. *et al.* Review of non-enzymatic browning and antioxidant capacity in processed foods. **Trends in Food Science & Technology**, Tóquio, v. 11, n. 10, p. 340-346, 2000.
- MANZOCCO, L.; DA PIEVE, S.; MAIFRENI, M. Impact of UV-C light on safety and quality of fresh-cut melon. **Innovative Food Science and Emerging Technologies**, Amsterdã, v. 12, p. 13-17, 2011.
- MARIANO-NASSER, F. A. *et al.* Bioactive compounds in different acerola fruit cultivares. **Semina: Ciências Agrárias**, Londrina, v. 38, n. 4, p. 2505-2514, 2017.
- MARQUES, T. R. *et al.* Chemical constituents and technological functional properties of acerola (*Malpighia emarginata* DC) waste flour. **Food Science Technology**, Amsterdã, v. 33, n. 3, p. 526-531, 2013.
- MARTINEZ, M. V.; WHITAKER, J. R. The biochemistry and control of enzymatic browning. **Trends Food Science Technology**, Tóquio, v. 6, p. 195-200, 1995.
- MAZARO, S. M. *et al.* Qualidade pós-colheita de acerolas tratadas com ácido salicílico. **Revista Brasileira de Ciências Agrárias**, Recife, v. 10, n. 4, p. 512-517, 2015.
- MAZID, M.; KHAN, T.A.; MOHAMMAD, F. Role of secondary metabolites in defense mechanisms of plants. **Biology Medical**, Nova York, v. 3, n. 2, p. 232-249, 2011.
- MEDEIROS-AGUIAR, T. *et al.* Chemical characterization and evaluation of the nutritional value *Malpighia puniceifolia* seeds. **Nutrire**, São Paulo, v. 19, p. 67-72, 2010.
- MELLIDOU, I. *et al.* Regulation of fruit ascorbic acid concentrations during ripening in high and low vitamin C tomato cultivars. **BMC Plant Biology**, Seul, v. 12, p. 239-243, 2012.
- MELLIDOU, I.; KANELLIS, A. K. Genetic control of ascorbic acid biosynthesis and recycling in horticultural crops. **Frontiers in Chemistry**, Seul, v. 5, n. 50, p. 1-8, 2017.
- MEZADRI, T. *et al.* Antioxidant compounds and antioxidant activity in acerola (*Malpighia emarginata* DC) fruits and derivatives. **Journal of Food Composition and Analysis**, Pequim, v. 21, p. 282-290, 2008.
- MITTLER, R. Oxidative stress, antioxidants and stress tolerance. **Trends in Plant Science**, Tóquio, v. 7, p. 405-410, 2002.
- MOHAMMADI, N. *et al.* Effect of UV-C radiation on antioxidant enzymes in strawberry fruit (*Fragaria x ananassa* cv. Camarosa). **Journal of Agricultural and Biological Science**, Bruxelas, v. 7, n. 10, p. 231-234, 2012.
- MOHAMMED, M. **Acerola** (*Malpighia emarginata* DC), In Wood head Publishing Series in Food Science, Technology and Nutrition., 1. Ed. Elhadi M. Yahia. Woodhead Publishing, 2011, p. 27- 48.
- MONTIM, M.; OLIVEIRA, C. A.; VIEIRA M. L. C. Karyotype characterization of *Malpighia emarginata* DC (Malpighiaceae). **Revista Brasileira de Fruticultura**, Jaboticabal, v. 32, n. 2, p. 369-374, 2010.



MORI, T.; SAKURAI, M.; SAKUTA, M. Effects of conditional medium on activities of PAL, CHS, DAHP synthases (DS-Co and Ds-Mn) and anthocyanin production in suspension cultures of *Fragariaananassa*. **Plant Science**, Londres, v. 160, p. 355-360, 2001.

MOURA, C. F. H. *et al.* Características físico-químicas de frutos verdes e maduros de clones de aceroleiras (*Malpighiaemarginata*DC). **ProceedingsInteramericanSociety Tropical Horticulture**, Cidade do México, v. 47, n. 3, p. 96-98, 2003.

MOURA, C. F. H. *et al.* Avaliações físicas e físico-químicas de frutos de clones de aceroleira (*Malpighia emarginata* DC) **RevistaCiênciaAgrônômica**, Fortaleza, v. 38, n. 1, p.52-57, 2007.

MURATA, M.; NODA, I.; HOMMA, S. Enzymatic browning of apples on the market: relationship between browning, polyphenol content, and polyphenol oxidase. **Hort Science**, Londres, v. 42, n. 10, p. 820-826, 1995.

MURSHED R.; LOPEZ-LAURI F.; SALLANON H. Microplate quantification of enzymes of the plant ascorbate-glutathione cycle. **Analytical Biochemistry**, Londres, v.15, n. 2, p. 320-322, 2008.

NACZK, M.; SHAHIDI, F. Extraction and analysis of phenolics in food. **Journal of Chromatography**, Amsterdã, v. 1054, p. 95-111, 2004.

NAKANO, Y.; ASADA, K. Hydrogen peroxide is scavenged by ascorbate specific peroxidases in spinach chloroplast. **PlantCellPhysiology**, Amsterdã, v. 22, p. 867-880, 1981.

NASSER, M. D.; ZONTA, A. Caracterização de frutos de genótipos de aceroleira em função de estádios de maturação. **Tecnologia&CiênciaAgropecuária**, Campinas, v. 8, n. 5, p. 76-78, 2014.

NUNES, E. E.*et al.* Efeito de diferentes temperaturas na qualidade de mandioquinhasalsa minimamente processada. **Horticultura Brasileira**, Brasília, v. 28, p. 311-315, 2010.

ÔBA, K.*et al.* L-Galactono- $\gamma$ -lactone dehydrogenase: partial characterization, induction of activity and role in the synthesis of ascorbic acid in wounded white potato tuber tissue. **Plant and Cell Physiology**, Amsterdã, v. 35, n. 3, p. 473-478, 1994.

OBANDA, M.; OWUOR, P. O. Flavanol composition and caffeine content of green leaf as quality potential indicators of kenyan black teas. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, Cabul, v. 74, n. 2, p. 209-215, 1997.

OLIVEIRA, J. R. P.*et al.* Colheita. In: RITZINGER, R.; KOBAYASHI, A. K.; OLIVEIRA, J. R. P. **A cultura da aceroleira**. Cruz das Almas, Ba: Embrapa Mandioca e Fruticultura, 198p, 2003.

OLIVEIRA, L. S. O. *et al.* Antioxidant metabolismo duringfruitdevelopmentofdifferent acerola (*Malpighia emarginata* DC) clones. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, Nairóbi, v. 60, p. 7957-7964, 2012.

OSORIO, S. *et al.* Pyrophosphate levels strongly influence ascorbate and starch content in tomato fruit. **Frontiers in Plant Science**, Seul, v. 4, n. 9, p. 1-13, 2013.

PAI, S. T.; ZHANG, Q. Introduction to high power pulse technology. **OECD Publishing**, Paris, v. 10, p. 29-46, 1995.

PALGAN, I. *et al.* Effectiveness of high intensity light pulses (HILP) treatments for the control of *Escherichia coli* and *Listeria innocua* in apple juice, orange juice and milk. **Food Microbiology**, Amsterdã, v. 28, p. 14-20, 2011.

PARKIN, K. L. Enzimas. In.: DAMODARAN, S.; PARKIN, K.; FENNEMA, O.R. **Química de Alimentos de Fennema**. 4. ed. Porto Alegre: Artmed, 2010. 900 p.

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

PIRES, C. R. F. *et al.* Perfil enzimático de amoras pretas armazenadas sob diferentes temperaturas de refrigeração. **Brazilian Journal of Food Research**, Campinas, v. 7, n. 2, p. 53-66, 2016.

QUOC, L. P. T. *et al.* Effect of xanthan gum solution on the preservation of acerola (*Malpighia glabra* L.). **Cercetări Agronomice în Moldova**, Moldávia, v. 48, n. 3, p. 89-97, 2015.

RABELO, M. C. **Efeitos da luz pulsada sobre o metabolismo de vitamina c e compostos fenólicos em acerola (*Malpighia marginata* DC)**. 2016, 76 p. Tese – Doutorado em Bioquímica, Universidade Federal do Ceará, Fortaleza - CE.

RAMOS-VILLARROEL, A. Y.; MARTÍN-BELLOSO, O.; SOLIVA-FORTUNY, R. Bacterial inactivation and quality changes in fresh-cut avocado treated with intense light pulses. **European Food Research and Technology**, Budapeste, v. 233, p. 395-402, 2011.

RICE-EVANS, C. A. *et al.* The relative antioxidant activities of plant-derived polyphenolic flavonoids. **Free Radicals Research**, Tóquio, v. 22, p. 375-83, 1995.

RITZINGER, R.; RITZINGER, C. H. S. P. Acerola. **Informe Agropecuário**, v.32, n. 264, p.17-25, 2011.

ROBINSON, D. S. **Food Biochemistry and nutritional value**. Logman scientific and technical: Essex. 1987, 320 p.

RODOV, V.; VINOKUR, Y.; HOREV, B. Brief postharvest exposure to pulsed light stimulates coloration and anthocyanin accumulation in fig fruit (*Ficus carica* L.). **Postharvest Biology and Technology**, Amsterdã, v. 68, p. 43-46, 2012.

RUFINO, M. do S. M. *et al.* **Metodologia científica: determinação da atividade antioxidante total em frutas no sistema  $\beta$ -caroteno ácido linoleico**. Comunicado Técnico EMBRAPA. n. 126: Fortaleza, 2006.

SAIKIRAN, K. C. H. S.; LAVANYA, M. N.; VENKATACHALAPATHY, N. Different pulsed light systems and their application in foods: A review. **International Journal of Science, Environment and Technology**, Amsterdã, v. 5, n. 3, p. 1463-1476, 2016.

SANMARTIN, M. *et al.* Over-expression of ascorbate oxidase in the apoplast of transgenic tobacco results in altered ascorbate and glutathione redox states and increased sensitivity to ozone. **Planta**, Amsterdã, v. 216, p. 918–928, 2003.

SAUVAGE, C. *et al.* Genome-wide association in tomato reveals 44 candidate loci for fruit metabolic traits. **Plant Physiology**, Londres, v. 165, p. 1120-1132, 2014.

SANTOS, S. M. L. *et al.* Evaluation of physical and physicochemical characteristics of (*Malpighia emarginata* DC) from the state of Ceará. **International Journal of Biochemistry Research e Review**, Califórnia, v. 2, n. 4, p. 152-163, 2012.

SAZAN, M. S. *et al.* **Manejo de polinizadores da aceroleira**. Ribeirão Preto, SP: Holos, 2014.

SCALON, S. D. P. Q.; DELL'OLIO, P.; FORNASIERI, J. L. Temperatura e embalagens na conservação pós-colheita de eugenia uvalha cambess - mirtaceae cambess - mirtaceae. **Ciência Rural**, Santa Maria, v. 34, n. 4, p. 1965-1968, 2004.

SHAMA, G.; ALDERSON, P. UV hormesis in fruits: a concept ripe for commercialization. **Trends in Food Science e Technology**, Seul, v. 16, p. 128-136, 2005.

SILVA, M. L. C. *et al.* Phenolic compounds, carotenoids and antioxidant activity in plant products. **Semina: Ciências Agrárias**, Londrina, v. 31, n. 3, p. 669-682, 2010.

SIMÕES, A. do N. *et al.* The effects of storage temperature on the quality and phenolic metabolism of whole and minimally processed kale leaves. **Acta Scientiarum Agronomy**, Maringá, v. 37, n. 1, p. 101-107, 2015.

SINGH, S. P.; SINGH, Z. Postharvest cold storage-induced oxidative stress in Japanese plums (*Prunus salicina* Lindl. cv. Amber Jewel) in relation to harvest maturity. **Australian Journal Crop Science**, Sidney, v. 7, n. 3, p. 391-400, 2013.

SMIRNOFF, N.; RUNNING, J. A.; GATZEK, S. **Ascorbate biosynthesis a diversity of pathways, in vitamin c: its functions and biochemistry in animals and plants**, ed. by ASARD, H.; MAY, J.; SMIRNOFF, N. Scientific Publishers, New York, p. 7-29, 2004.

SOJO, M. M.; NUÑEZ-DELICADO, E.; GARCÍA-CARMONA, F. Partial purification of a banana polyphenol oxidase using triton X-114 and PEG 8000 for removal of polyphenols. **Journal Agricola Food Chemistry**, Amsterdã, v. 46, p. 4924-4930, 1998.

SOUZA, J. F. **Utilização de luz ultravioleta contínua (UV-C) e luz pulsada para conservação de mangas cv. Tommy Atkins minimamente processadas**. 2014, 136 p. Tese – Doutorado em Produção Vegetal, Universidade Estadual Paulista, Jaboticabal – SP.

- SOUZA, K. O. *et al.* Antioxidant compounds and total antioxidant activity in fruits of acerola from cv. Flor Branca, Florida Sweet and BRS 366. **Revista Brasileira de Fruticultura**, Jaboticabal, v. 36, n. 2, p. 294-304, 2014.
- SOUZA, K. O. *et al.* Quality of acerola (*Malpighia emarginata* DC) treated with gibberelic acid and stored under refrigeration. **Revista Brasileira de Fruticultura**, Jaboticabal, v. 39, n. 4, (e-574), 2016.
- STEVENS, R. *et al.* Candidate genes and quantitative trait loci affecting fruit ascorbic acid content in three tomato populations. **Plant Physiology**, Amsterdã, v. 143, p. 1943–1953, 2007.
- STEVENS, R. *et al.* Tomato fruit ascorbic acid content is linked with monodehydroascorbate reductase activity and tolerance to chilling stress. **Plant Cell Environment**, Bruxelas, v. 31, p. 1086-1096, 2008.
- SURJADINATA, B. B. *et al.* UVA, UVB and UVC light enhances the biosynthesis of phenolic antioxidants in fresh-cut carrot through a synergistic effect with wounding. **Molecules**, Amsterdã, v. 22, n. 668, p. 1-13, 2017.
- TAYZ, L.; ZEIGER, E. **Fisiologia vegetal**. 6. ed. Porto Alegre: Artmed, 2017.
- TEOH, L. S. *et al.* The effect of ultraviolet treatment on enzymatic activity and total phenolic content of minimally processed potato slices. **Journal Food Science Technology**, Amsterdã, v. 53, n. 7, p. 3035–3042, 2016.
- TRUFFAULT, V. *et al.* Ascorbate degradation in tomato leads to accumulation of oxalate, threonate and oxalylthreonate. **Plant Journal**, Londres, v. 89, p. 996-1008, 2017.
- VENDRAMINI, A. L.; TRUGO, L. C. Chemical composition of acerola fruit (*Malpighia puniceifolia* L) at three stages of maturity. **Food Chemistry**, Amsterdã, v. 71, p. 195-198, 2000.
- VIDAL, B. C. Acid glycosaminoglycans and endochondral ossification: microspectrophotometric evaluation and macromolecular orientation. **Cell Molecular Biology**, Amsterdã, v. 4, p. 45-64, 1977.
- WANG, L.; FREI, M. Stressed food the impact of abiotic environmental stresses on crop quality. **Agriculture, Ecosystems & Environment**, Flórida, v. 141, n. 3, p. 271-286, 2011.
- WHEELER, G. L.; JONES, M. A.; SMIRNOFF, N. The biosynthetic pathway of vitamin C in higher plants. **Nature**, Londres, v. 393, p. 365-369, 1998.
- WHITE, B. L.; HOWARD, L. R.; PRIOR, R. L. Release of bound procyanidins from cranberry pomace by alkaline hydrolysis. **Journal Agricola and Food Chemistry**, Cairo, v. 58, p. 7572-7579, 2010.
- WOLUCKA, B. A.; VANMONTAGU, M. GDP-mannose 3',5'-epimerase forms GDP-L-gulose, a putative intermediate for the de novo biosynthesis of vitamin C in plants. **Journal Biology and Chemistry**, Amsterdã, v. 278, p. 47483-47490, 2003.

XENONCORP. 2005. AN-104 application note. **Achieving faster cure time with pulsed ultraviolet, available** online at <http://www.globalspec.com>.

XU, W.; WU, C. The impact of pulsed light on decontamination, quality, and bacterial attachment of fresh raspberries. **Food Microbiology**, Londres, v. 57, p. 135-143, 2016.

YAN, S. *et al.* Maturity and cooling rate affects browning, polyphenol oxidase activity and gene expression of Yali pears during storage. **Postharvest Biology and Technology**, Amsterdã, v. 85, p. 39-44, 2013.

YANG, Z.; ZHENG, Y.; CAO, S. Effect of high oxygen atmosphere on quality, antioxidant enzymes, and DPPH-radical scavenging activity of Chinese bayberry fruit. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, Amsterdã, v.57, p.176-181, 2009.

YANG, Q.; WANG, F.; RAO, M J. Effect of putrescine treatment on chilling injury, fatty acid composition and antioxidant system in kiwi fruit. **Plos One**, Seul, v. 11, n. 9, p. 159-162, 2016.

YIN, L. *et al.* Overexpression of dehydroascorbate reductase, but not monodehydroascorbate reductase, confers tolerance to aluminum stress in transgenic tobacco. **Planta**, Londres, v. 231, 609-621, 2010.

YORUK, R.; MARSHALL, M. R. Physicochemical properties and function of plant polyphenol oxidase: a review. **Journal of Food Biochemistry**, Londres, v. 27, p. 361- 422, 2003.