

SARAH FERREIRA GUIMARÃES

**RESPOSTAS FISIOLÓGICAS NA PÓS-COLHEITA DE FOLHAS DE
MANJERICÃO (*Ocimum basilicum* L.)**

Dissertação apresentada à Universidade Federal de Viçosa, como parte das exigências do Programa de Pós-Graduação em Fisiologia Vegetal, para obtenção do título de Magister Scientiae.

VIÇOSA

MINAS GERAIS – BRASIL

2015

Ficha catalográfica preparada pela Biblioteca Central da
Universidade Federal de Viçosa - Campus Viçosa

T

G963r
2015 Guimarães, Sarah Ferreira, 1990-
Respostas fisiológicas na pós-colheita de folhas de manjeriço
(*Ocimum basilicum* L.) / Sarah Ferreira Guimarães. - Viçosa, MG,
2015.

viii, 102f. : il. (algumas color.) ; 29 cm.

Inclui apêndices.

Orientador: Fernando Luiz Finger.

Dissertação (mestrado) - Universidade Federal de Viçosa.

Inclui bibliografia.

1. *Ocimum basilicum*. 5. Manjeriço - Fisiologia pós-colheita.
6. Manjeriço - Armazenamento - Efeito da temperatura. 7. Enzimas.
8. Flavonoides. 9. Carotenoides. I. Universidade Federal de Viçosa.
Departamento de Fitotecnia. Programa de Pós-graduação em Fisiologia
Vegetal. II. Título.

CDD 22. ed. 633.83

SARAH FERREIRA GUIMARÃES

RESPOSTAS FISIOLÓGICAS NA POS-COLHEITA DE FOLHAS DE
MANJERICÃO (*Ocimum basilicum* L.).

Dissertação apresentada à Universidade Federal de Viçosa, como parte das exigências do Programa de Pós- Graduação em Fisiologia Vegetal, para obtenção do título de *Magister Scientiae*.

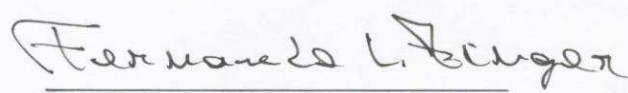
APROVADA: 28 de julho de 2015.



Vicente Wagner Dias Casali



Rosana Gonçalves Rodrigues das Dores



Fernando Luiz Finger
(Orientador)

À memória de minha mãe, Eunice, que me ensinou a colocar amor e dedicação em todas as coisas.

DEDICO.

“Mas é preciso ter manha
É preciso ter graça
É preciso ter sonho sempre
Quem traz na pele essa marca
Possui a estranha mania
De ter fé na vida”

(Maria Maria - Milton Nascimento e Fernando Brant)

AGRADECIMENTOS

À minha mãe, Eunice, exemplo de ser humano, pelo amor incondicional e atemporal. Ao meu pai, Benito, pela força, dedicação, encorajamento e por sempre se orgulhar de mim.

Aos meus irmãos, Dante, Riani e Alice, por serem o meu porto seguro em todos os momentos.

Ao restante da família pelo apoio incondicional e apreço! Em especial pelas orações da Vó Dute.

Ao Felipe por todo seu cuidado e carinho, sempre disposto a me ajudar com toda paciência e compreensão.

Ao professor Fernando Finger pela orientação, oportunidade de realizar este trabalho, confiança e exemplo profissional.

À Universidade Federal de Viçosa e ao programa de pós-graduação em Fisiologia Vegetal por todo aprendizado e oportunidade de crescimento profissional. À CAPES pela concessão da bolsa.

À Rosana Gonçalves, grande incentivadora profissional, que acreditou em mim desde o início, pelo apoio e amizade.

À Débora e Lucilene obrigada pela acolhida no laboratório, amizade e estarem presentes durante as análises deste experimento, deixando os dias mais leves e produtivos. Sem vocês seria impossível a execução deste trabalho.

Aos funcionários Paulo, Joelson e Quinquim pela grande ajuda durante a etapa de cultivo do manjeriço. Ao Geraldo, Sebastião, José Mauricio, Ribeiro e Martha pela disposição no auxílio durante as etapas do experimento no laboratório.

Ao professor Paulo Roberto Cecon pela providencial ajuda nas análises estatísticas, obrigada pela atenção e boa vontade.

Aos professores Vicente Wagner Dias Casali e Laércio pelo grande auxílio durante as etapas experimentais deste trabalho.

À Maira Fonseca pela gentileza e por sempre deixar os equipamentos e laboratórios da EPAMIG a disposição.

A todos os colegas e amigos do Laboratório de Pós-colheita.

Aos amigos de Ouro Preto e Viçosa pelos bons momentos e motivação. Em especial Dandara, Andreia, João, Teresa, Leonardo, Priscila, Maisa, Thais, Lílian, Cida, Carla, aos Rafas, Karla, Fernanda.

A Deus e as forças da natureza.

GRATIDÃO!

BIOGRAFIA

Sarah Ferreira Guimarães, filha de Benito Silva Guimarães e Eunice Ferreira Guimarães, nasceu no dia 03 de fevereiro de 1990, em Feira de Santana – Bahia.

Cursou o 2º grau no Centro Federal de Educação Tecnológica de Ouro Preto, em Ouro Preto, Minas Gerais.

Em março de 2013, graduou-se em Ciências Biológicas pela Universidade Federal de Ouro Preto (UFOP) em Ouro Preto, Minas Gerais.

Em agosto de 2013, iniciou o Curso de Mestrado em Fisiologia Vegetal, área de concentração em Fisiologia Pós-colheita, na Universidade Federal de Viçosa (UFV) em Viçosa, Minas Gerais.

SUMÁRIO

RESUMO	vii
ABSTRACT.....	viii
1- INTRODUÇÃO GERAL:	9
2 – CAPÍTULO 1: Indução do estresse por baixas temperaturas em manjeriço (O. basilicum L.) durante armazenamento pós-colheita	13
2.1- INTRODUÇÃO:	14
2.2- MATERIAL E MÉTODOS:	17
2.3- RESULTADOS E DISCUSSÃO:	19
2.4- Conclusões:	34
2.5- REFERÊNCIAS:	35
3- Capítulo 2: Avaliação da capacidade antioxidante do manjeriço (O. basilicum L.) através dos mecanismos enzimáticos e antioxidantes endógenos	40
3.1- INTRODUÇÃO	41
3.2- MATERIAL E MÉTODOS:	44
3.3- RESULTADOS E DISCUSSÃO:	49
3.4- CONCLUSÕES:	87
3.5- REFERÊNCIAS:	88
4- CONCLUSÃO GERAL:	97
5- APÊNDICE:	98

RESUMO

GUIMARÃES, Sarah Ferreira, MSc.. Universidade Federal de Viçosa, Julho de 2015. Respostas fisiológicas na pós-colheita de folhas de manjericão (*Ocimum basilicum* L.). Orientador: Fernando Luiz Finger.

Manjericão (*O. basilicum* L.), planta herbácea perene, de origem tropical possui importância condimentar, medicinal e ornamental. Esta hortaliça é bastante conhecida por ser aromática amplamente utilizada na produção de óleo essencial. Este trabalho teve como objetivo, avaliar as alterações fisiológicas e da qualidade em folhas de manjericão (*O. basilicum* L.) variedade ‘Roxinho’ ao longo de cinco dias de vida pós-colheita, à temperatura ambiente e a 5 °C, com e sem utilização de embalagens plásticas. Os dados foram avaliados no esquema fatorial 2x2 (2 temperaturas, 2 embalagens) no delineamento inteiramente casualizado, com quatro repetições, tendo nas subparcelas os tempos de avaliação. Foi avaliada a perda de massa fresca relativa, o extravasamento de eletrólitos, teor de compostos fenólicos, concentração de flavonoides, atividade antioxidante, concentração de carotenoides e a atividade das enzimas peroxidase (POD), polifenol oxidase (PPO), catalase (CAT) e superóxido dismutase (SOD). A utilização de embalagens plásticas permitiu maior conservação pós-colheita, diminuindo as perdas de massa fresca e o extravasamento de eletrólitos em ambas as temperaturas de armazenamento. O teor de compostos fenólicos foi aumentado em todos os tratamentos até o terceiro dia de análise, decrescendo a partir deste momento. Ao fim de 5 dias de armazenamento, o teor de flavonoides superior foi a 5°C sem utilização de embalagens. Todos os tratamentos tiveram aumento na concentração de flavonoides das folhas, exceto 5 °C com o uso de embalagens. A atividade antioxidante foi maior nos tratamentos armazenados à temperatura ambiente. A concentração de carotenoides foi incrementada nos tratamentos a 5 °C sem a utilização de embalagens. A utilização de embalagens plásticas diminuiu o dano por injúria por frio a 5 °C, prolongando a vida de prateleira das folhas de manjericão. As enzimas CAT, SOD e POD tiveram atividade superior nos tratamentos armazenados à temperatura ambiente. A atividade da enzima PPO foi maior nos tratamentos armazenados a 5°C. De acordo com os resultados obtidos, manjericão (*O. basilicum* L.) variedade ‘Roxinho’ deve ser armazenado à temperatura ambiente em embalagens plásticas.

ABSTRACT

GUIMARÃES, Sarah Ferreira, MSc.. Universidade Federal de Viçosa, Julho de 2015. Physiological responses in postharvest of basil leaves (*Ocimum basilicum* L.). Adviser: Fernando Luiz Finger.

Basil (*O. basilicum* L.) is a perennial herbaceous plant of tropical origin which has condimentar, medicinal and ornamental importance. This vegetable is well known for being an aromatic culture widely used for essential oil production. This study aimed to evaluate the physiological and quality changes in basil leaves (*O. basilicum* L.) variety "Roxinho" over five days of postharvest, at ambient temperature and at 5 °C, with and without use of plastic packages. The data were evaluated in a 2x2 factorial design (2 temperatures, 2 packages) in a completely randomized design, having in the subplots, the time evaluation. It was evaluated the relative fresh weight loss, electrolyte leakage, content of phenolic compounds, concentration of flavonoids, antioxidant activity, carotenoids concentration and the activity of the enzymes peroxidase (POD), polyphenol oxidase (PPO), catalase (CAT) and superoxide dismutase (SOD). The use of plastic packaging has enabled a better postharvest conservation, reducing the loss of fresh weight and the electrolyte leakage for both storage temperatures. The content of phenolic compounds increased for all treatments until the third day of analysis, with subsequent decrease. After 5 days of storage, the flavonoid content was greater at 5°C temperature without use of packaging. All treatments had an increase in the flavonoid concentration in basil leaves, excluding 5 °C with packaging use. The antioxidant activity was higher in the treatments at room temperature. The concentration of carotenoids was higher in the treatments at 5 °C without packaging use. The use of plastic packages decreased the damage by chilling at 5 °C extending shelf life of basil leaves. The enzymes CAT, SOD and POD had superior activity in the treatments stored at room temperature. The PPO enzyme activity was higher in the treatments stored at 5 °C. According to the results obtained, basil (*O. basilicum* L.) variety 'Roxinho' should be stored at room temperature in plastic packages.

1- INTRODUÇÃO GERAL:

O manjeriço (*Ocimum basilicum* L., Lamiaceae), planta anual ou perene, com centro de origem asiático, é cultivado com fins culinários, ornamentais, medicinais e extração de óleo essencial (SOARES et al., 2007). Utilizado como planta fresca é altamente perecível, com armazenamento limitado a 4-5 dias a temperatura ambiente (COSTA et al., 2013).

As perdas pós-colheita de espécies folhosas podem ser reduzidas com a utilização do armazenamento refrigerado, manutenção das folhas em alta umidade relativa (90-95%), ambiente com atmosfera modificada e pré-resfriamento (KALBASIASHTARI, 2004). A refrigeração atua diminuindo a taxa respiratória, a produção de etileno, a intensidade da senescência e atividade microbiana (KALBASIASHTARI, 2004). No entanto, produtos de origem tropical e subtropical, quando armazenados em baixas temperaturas podem ser sensíveis à injúria por frio (chilling), geralmente em temperaturas não congelantes entre 5 °C e 12 °C causando a degeneração dos tecidos (WONGSHEREE et al., 2009).

Este tipo de injúria é geralmente acompanhada de degradação de lipídeos (WONGSHEREE et al., 2009), aumento da produção de etileno e mudanças nos níveis de enzimas solúveis (MATINÉZ-TÉLLEZ et al., 1997; WONGSHEREE et al., 2009). As mudanças fisiológicas causadas pela injúria por frio são frequentemente relacionadas com aumento na permeabilidade das membranas, afetando a integridade, e a compartimentalização celular, com consequente perda de estrutura dos tecidos (CAMPOS et al., 2003; CAO et al., 2011). Como resultado destas alterações, há o aparecimento de descolorações generalizadas dos tecidos, depressões superficiais, colapso interno das células e surgimento de doenças (MENOLLI et al., 2008).

A perda da compartimentalização dos tecidos resulta na aparência escurecida das folhosas sensíveis ao chilling (CAMPOS et al., 2003). O escurecimento, resultado do processo de injúria, é causado pela ação das enzimas peroxidases (PODs) e polifenoloxidasas (PPO) (WONGSHEREE et al., 2009).

Condições de estresse abiótico, tais como seca, alagamento, altas e baixas temperaturas, dentre outros fatores, induzem a produção de espécies reativas de oxigênio (EROs), que levam ao aumento no mecanismo de defesa antioxidante em

plantas. Tais condições de estresse incluem altas e baixas temperaturas, seca, altos níveis de luminosidade, falta de nutrientes, presença de substâncias químicas tóxicas (VAN DOORN & KETSA, 2014), dano mecânico, ozônio, herbicidas, metais pesados, patógenos, poluentes atmosféricos e toxinas fotossensibilizantes (KAUPPANAPANDIAN et al., 2011).

EROs são produtos do metabolismo celular normal das células e a produção é controlada por vários sistemas enzimáticos e não enzimáticos (KAUPPANAPANDIAN et al., 2011). De modo a manter baixos níveis de EROs, oriundas do estresse nas células, existem duas linhas de defesa, que não são mutualmente exclusivas. A primeira linha inclui a presença de enzimas antioxidantes, como superóxido dismutase (SOD), ascorbato peroxidase (APX), glutathione redutase (GSH), peroxiredoxina (Prx), catalase (CAT), polifenol oxidase (PPO) glutathione peroxidase (GPX), monodehidroascorbato redutase (MDHAR), dehidroascorbato redutase (DHAR).

A segunda linha de defesa é a presença de antioxidantes endógenos, alguns dos quais são substratos das enzimas antioxidantes, enquanto outros podem agir independentemente das enzimas, como por exemplo, os fenóis, antocianinas, outros flavonoides, glutathione, ácido ascórbico, α -tocoferol e carotenoides (SOARES & MACHADO, 2007; CAO et al., 2011; VAN DOORN & KETSA, 2014; O'BRIEN et al., 2012).

A literatura científica é escassa de dados bibliográficos científicos correlacionando os mecanismos antioxidantes enzimáticos e endógenos em situações de injúria pós-colheita por baixa temperatura em espécies vegetais sensíveis. Por isso a importância deste estudo na avaliação e caracterização fisiológica dos efeitos da injúria por frio, bem como na avaliação da qualidade pós-colheita de manjeriço (*O. basilicum* L.) variedade 'Roxinho'. Desta maneira, o objetivo deste trabalho foi avaliar as alterações fisiológicas e de qualidade relacionadas à pós-colheita em manjeriço (*O. basilicum* L.) variedade 'Roxinho', mensurando a capacidade antioxidante pela avaliação dos mecanismos enzimáticos das enzimas PPO, POD, CAT e SOD e pelo comportamento das concentrações de compostos fenólicos, flavonoides e antioxidantes totais ao longo de cinco dias de pós-colheita, nas temperaturas ambiente e a 5 °C, com e sem utilização de embalagens plásticas.

A avaliação da atividade das enzimas (POD), (PPO), (CAT) e (SOD) in vitro, bem como o doseamento dos compostos fenólicos, flavonoides, carotenoides e atividade

antioxidante total são importantes variáveis que caracterizam as respostas fisiológicas celulares frente ao estresse abiótico.

REFERÊNCIAS:

CAMPOS, P.S.; QUARTIN, V.; RAMALHO, J.C.; NUNES, M.A. Electrolyte leakage and lipid degradation account for cold sensitivity in leaves of *Coffea* sp. plants. **Journal of Plant Physiology**, v.160, p. 283–292, 2003.

CAO, S.; YANG, Z.; CAI, Y.; ZHEN, Y. Fatty acid composition and antioxidant system in relation to susceptibility of loquat fruit to chilling injury. **Food Chemistry**, v. 127, p. 1777–1783, 2011.

COSTA, L.; MONTANO, Y.M.; CARRIÓN, C.; ROLNY, N.; GUIAMET, J.J. Application of low intensity light pulses to delay postharvest senescence of *Ocimum basilicum* leaves. **Postharvest Biology and Technology**, v. 86, p. 181–191, 2013.

KALBASI-ASHTARI, A. Effects of post-harvest pre-cooling processes and cyclical heat treatment on the physico-chemical properties of “Red Haven Peaches” and “Shahmavch Pears” during cold storage. **Agricultural Engineering International**, v.6, p.1-17, 2004

KAUPPANAPANDIAN, T.; MOON, J-C; KIM, C.; MANOHARAN, K.; KIM, W. Reactive oxygen species in plants: their generation, signal transduction, and scavenging mechanisms. **Australian Journal of Crop Science**, v. 5, n. 6, p.709-725, 2011.

MATINÉZ-TÉLLEZ, M.A.; LAFUENTE, M.T. Effect of High Temperature Conditioning on Ethylene, Phenylalanine Ammonia-lyase, Peroxidase and Polyphenol Oxidase Activities in Flavedo of Chilled Mandarin Fruit. **Journal of Plant Physiology**, v.150. p. 674-678, 1997.

MENOLLI, L.N.; FINGER, F.L.; PUIATTI, M.; BARBOSA, J.M.; BARROS, R.S. Atuação das enzimas oxidativas no escurecimento causado pela injúria por frio em raízes de batata-baroa. **Acta Scientiarum Agronomy**, v. 30, n. 1, p. 57-63, 2008.

O'BRIEN, J.A.; DAUDI, A.; BUTT, V.S.; BOLWELL, G.P. Reactive oxygen species and their role in plant defence and cell wall metabolism. **Planta**, v.236, p.765–779, 2012.

SOARES, A.M.S.; MACHADO, O.L.T. Defesa de plantas: Sinalização química e espécies reativas de oxigênio. **Revista Tropica**, v.1, n. 1, p. 9, 2007.

VAN DOORN, W.G; KETSA, S. Cross reactivity between ascorbate peroxidase and phenol (guaiacol) peroxidase. **Postharvest Biology and Technology**, v. 95, p. 64–69, 2014.

WONGSHEREE, T.; KETSA, S.; VAN DOORN, W.G. The relationship between chilling injury and membrane damage in lemon basil (*Ocimum × citriodourum*). **Postharvest Biology and Technology**, v. 51, p. 91–96, 2009.

2 – CAPÍTULO 1: Indução do estresse por baixas temperaturas em manjeriço (*O. basilicum* L.) durante armazenamento pós-colheita

RESUMO

O manjeriço é bastante conhecido como planta aromática cultivada na produção de óleo essencial, produção de folhas frescas e secas, tem potencial condimentar, medicinal e ornamental. Este trabalho teve como objetivo avaliar as alterações fisiológicas e de qualidade relacionadas à pós-colheita em condições de injúria por frio em folhas de manjeriço (*O. basilicum* L.) variedade ‘Roxinho’ no armazenamento à temperatura ambiente e a 5 °C. O delineamento experimental foi inteiramente casualizado em esquema fatorial 2x2 (2 temperaturas, 2 embalagens) e nas subparcelas os tempos de avaliação. Foram avaliadas as variáveis perda de massa fresca relativa e extravasamento de eletrólitos. Os maiores valores de perda de massa fresca relativa ocorreram no armazenamento pós-colheita com ausência de embalagens plásticas. A utilização de embalagens plásticas permitiu maior conservação pós-colheita e menor extravasamento de eletrólitos nas temperaturas de armazenamento testadas, retardando a senescência dos tecidos vegetais. O armazenamento pós-colheita de manjeriço à temperatura ambiente com utilização de embalagens plásticas é opção viável e econômica com relação às perdas de massa fresca relativa e extravasamento de eletrólitos.

2.1- INTRODUÇÃO:

O gênero *Ocimum* compreende dezenas de espécies e subespécies, nativas das regiões tropicais e subtropicais da Terra (LEWINSOHN et al., 2000), inclui plantas herbáceas anuais ou perenes originárias da Ásia, África, Américas Central e do Sul (EKREN et al., 2012; TELCI et al., 2006). Há grande variedade morfológica e fitoquímica no gênero *Ocimum*, influenciados principalmente por fatores ambientais (BERNHARDT et al., 2014). A taxonomia de *Ocimum* é complexa devido à hibridização interespecífica, espécies poliploides, ocorrência de polinização cruzada resultando em grande número de subespécies, variedades e formas. Inicialmente estudiosos organizaram o gênero em 150 espécies, no entanto, posteriormente chegaram à conclusão que possui somente 64 espécies e as outras atribuições são considerados sinônimos (TELCI et al., 2006).

Manjeriço (*O. basilicum* L.), planta herbácea perene, atinge altura máxima de 30 a 50 cm. As inflorescências têm coloração variando de brancas, rosas ou arroxeadas. O cálice das flores maduras é de cerca de 4mm de diâmetro, a pequena corola dificilmente ultrapassa o cálice. As folhas são pecioladas, afinadas, ovaladas ou obovadas, acuminadas nas suas bases. As folhas possuem sabor e aroma apreciados na culinária, e são utilizadas com finalidade medicinal (NGASSOUMA et al., 2004). Há grande variedade de cultivares de manjeriço, com diferentes propriedades químicas, e características físicas (TELCI et al., 2006). Quanto a características morfológicas da planta o manjeriço pode receber nomenclatura dependendo do porte, formato da copa, tamanho e coloração da folhagem (BERNHARDT et al., 2014).

O manjeriço é conhecido por ser planta aromática com cultivo voltado à produção de óleo essencial, folhas frescas e secas, condimentar, medicinal e por seu uso ornamental (EKREN et al., 2012; LEWINSOHN et al., 2000; FILIP et al., 2014). Os óleos essenciais das plantas da família Lamiaceae são compostos primariamente de mono e sesquiterpenos (LEWINSOHN et al., 2000). A proporção do óleo essencial varia entre 0,1% e 0,45% da massa fresca baseada em diferenças climáticas, de solo e cultivo. A época de colheita e a parte da planta a ser colhida dependem da finalidade do produto. O óleo essencial é utilizado pela indústria alimentícia, farmacêutica e perfumaria. Os componentes majoritários do óleo essencial do manjeriço são o linalol, estragol, metil cinamato, eugenol, 1,8-cinelol, metil chavicol, geranial, neral e óxido cariofileno (EKREN et al., 2012).

De acordo com o aroma o manjerição pode ser classificado em doce, limão, cinamato ou canela, cânfora, anis e cravo. O preç o do óleo essencial puro de manjerição varia de R\$525,00/kg   R\$281,00/kg dependendo da classificação e pureza (SIGMA-ALDRICH, 2015).

Mesmo com o grande uso e importância do óleo essencial do manjerição pouco é sabido sobre sua biossíntese e regulação ao longo do desenvolvimento dos compostos responsáveis pela qualidade do aroma em plantas frescas ou secas (LEWINSOHN et al., 2000). O extrato do manjerição possui atividades antimicrobianas e antioxidantes, devido seus compostos fenólicos e aromáticos. Os principais compostos fenólicos descritos no manjerição são ácidos fenólicos e flavonol glicosídeos. Além disso, o manjerição possui propriedades inseticidas e antifúngicas (FILIP et al., 2014).

Estudos demonstraram que o manjerição possui altas concentrações de compostos fenólicos que são associados à capacidade antioxidante. O  cido rosmarínico é o mais prevalente fenólico encontrado no manjerição, entretanto outros derivados do ácido caféico, como ácido chic rico são encontrados em concentrações substanciais (NGUYEN et al., 2010). A alta capacidade antioxidante do manjerição, bem como a maioria de suas propriedades medicinais, são atribuídas primariamente ao ácido rosmarínico. Muitas técnicas no melhoramento em produção têm sido desenvolvidas buscando o aumento das concentrações dos níveis de compostos fenólicos em manjerição (NGUYEN et al., 2010).

Frutas e vegetais são ricos em vitaminas essenciais, minerais, fibras e outros compostos que promovem a saúde e o consumo tem aumentado nos últimos anos.   crescente o interesse dos consumidores na boa qualidade da produção, onde o produto mantem o valor nutricional, sabor e aroma nas frutas e vegetais a serem consumidos (DING et al., 2015).

De acordo com os consumidores o termo qualidade define fruto ou vegetal de dimensões perfeitas, volume, cor, aroma e ausência de defeitos como cortes manchas ou decaimento de folhas. Grande parte da população consome frutas e vegetais, resultando em grande demanda de cultivo e mercado (SIVAKUMAR & BAUTISTA-BA OS, 2014).

O manjerição fresco, espécie vegetal folhosa altamente perecível, tem capacidade de armazenamento de 4 a 5 dias   temperatura ambiente. A senescência pós-colheita de folhas verdes é induzida pelo destacamento e exposição a condições de

escuro ou pouca luz, como consequência à deficiência de água e nutrientes, e diminuição das taxas fotossintéticas (COSTA et al., 2013).

Devido à deterioração rápida, os produtos perecíveis como as hortaliças folhosas, não têm potencial de conservação além de alguns dias ou semanas, exigindo assim o consumo imediato, ou técnicas de conservação pós-colheita. A deterioração pós-colheita dos produtos frescos pode ser causada por fatores em adição à alta taxa respiratória, incluindo mudanças bioquímicas associadas com o metabolismo respiratório, biossíntese e ação do etileno, mudanças na composição orgânica dos tecidos, mudanças anatômicas, injúrias físicas, perdas de água, desordens fisiológicas e patológicas (MESSIAS, 2004).

As perdas pós-colheita de espécies folhosas podem ser reduzidas com a utilização do armazenamento refrigerado, manutenção das folhas em alta umidade relativa (90-95%), atmosfera modificada e processo de pré-resfriamento. A redução da temperatura proporciona menor gradiente de pressão de vapor de água entre a planta e o meio, minimizando as perdas de água das espécies folhosas. A refrigeração atua também diminuindo a taxa respiratória, a produção de etileno, e a intensidade da senescência e atividade microbiana (KALBASIASHTARI, 2004).

A refrigeração, técnica pós-colheita relativamente simples e barata, possui efeitos consideráveis sobre a conservação de produtos perecíveis. Reduz o metabolismo, diminui o crescimento de patógenos e perdas de água do produto armazenado. No entanto, produtos de origem tropical e subtropical, quando armazenados em baixas temperaturas podem ser sensíveis à injúria por frio (chilling), geralmente em temperaturas não congelantes entre 5 °C e 12 °C causando a degeneração dos tecidos (WONGSHEERE et al., 2009). A sensibilidade da planta depende da temperatura, tempo de exposição, da espécie, cultivar e órgão exposto (BEKHRADI et al., 2015). Estes fatores combinados influenciam no tempo de vida de prateleira.

A senescência é induzida como consequência de fatores bióticos e abióticos de estresse, por exemplo, baixo suprimento de água e nutrientes, exposição ao ambiente escuro, inibição da fotossíntese, e indução de hormônios relacionados ao estresse (HASSAN & MAHFOUZ, 2010). A senescência pós-colheita causa sérias perdas econômicas, causando rápido declínio na qualidade das folhas do manjericão. Um dos principais objetivos em tecnologia pós-colheita é atrasar o aparecimento dos sintomas de senescência em vegetais. O manjericão por ser planta tropical é susceptível a injúria

por frio, que causa aparecimento de lesões escuras nas folhas (HASSAN & MAHFOUZ, 2010; COSTA et al., 2013).

As respostas à injúria por frio, em sua fase inicial, são consideradas de natureza física, incluindo principalmente as mudanças na permeabilidade das membranas celulares. Nas plantas sensíveis à baixa temperatura, ocorre transição da fase física das membranas, passando da estrutura líquido-cristalino flexível para a gel-sólida. Tais mudanças na estrutura das membranas provocam respostas secundárias, além de mudanças irreversíveis, que são dependentes de temperatura, tempo de exposição e susceptibilidade genotípica (WONGSHEREE et al., 2009).

O objetivo desse trabalho foi avaliar as alterações fisiológicas e de qualidade relacionadas à pós-colheita em condições de chilling em manjeriço (*O. basilicum* L.) variedade “Roxinho” durante o armazenamento à temperatura ambiente e a 5 °C, com e sem utilização de embalagens plásticas.

2.2- MATERIAL E MÉTODOS:

O manjeriço variedade ‘Roxinho’ (*O. basilicum* L.), foi cultivado no Vale da Agronomia campus da UFV, Viçosa, Minas Gerais, nos meses de agosto a novembro de 2014. A propagação das mudas foi pelo método de estacas. Estruturas propagativas e vegetativas do manjeriço foram identificadas por taxonomista no Herbário VIC /UFV/ DBV, a respectiva exsicata, está depositada sob numero VIC 43.849.

Os experimentos foram realizados no Laboratório de Pós-colheita do Departamento de Fitotecnia da Universidade Federal de Viçosa, entre dezembro de 2014 a abril de 2015.

Após a colheita, os ramos de manjeriço foram transferidos ao laboratório, onde foram selecionados os critérios para organização dos tratamentos. Pesou-se 70g de folhas por repetição dos tratamentos, onde parte dos ramos foram armazenados em embalagens plásticas PET, e parte deles não. Os tratamentos foram: armazenamento a temperatura ambiente sem embalagem (TA-SE); armazenamento a temperatura ambiente com embalagem (TA-E); armazenamento a 5 °C sem embalagem (5 °C-SE); e armazenamento a 5 °C com embalagem (5° C-E). Todos os tratamentos foram feitos com quatro repetições no delineamento inteiramente casualizado.

Os tratamentos foram armazenados no período de 0 a 5 dias à temperatura ambiente e à temperatura de 5 °C. O processo da indução à injúria por frio (chilling) foi

quantificado diariamente. Após a refrigeração, as unidades amostrais foram retiradas dos refrigeradores e avaliadas após a permanência de 2 horas à temperatura ambiente para posteriores análises. 50g de folhas de manjeriço de cada uma das repetições dos tratamentos foram selecionadas diariamente, congeladas em nitrogênio líquido e armazenadas para posterior análise da atividade enzimática.

2.2.1- Perda de massa fresca:

A análise de perda de massa fresca foi realizada diariamente nas folhas de manjeriço durante todo o período de armazenamento. A perda de massa fresca foi estimada com base na massa fresca inicial dos ramos (70g). Os resultados foram obtidos mediante a equação a seguir:

$$PMF = ((MFI - MFF) \times 100 / MFI), \text{ onde}$$

PMF: Perda de massa fresca (%)

MFI: Massa fresca inicial

MFF: Massa fresca final

2.2.2- Extravasamento de eletrólitos:

O extravasamento de eletrólitos foi realizado de acordo com método proposto por WHITLOW (1992). Foram retirados discos foliares de aproximadamente 6mm de diâmetro das folhas. Os discos foram lavados com água destilada e armazenados em frascos plásticos de 50mL, que foram colocados em banho de água a 25°C, sob agitação durante 2 horas. Após esse período foi mensurada a condutividade elétrica inicial. Depois, os frascos foram armazenados a -20 °C por 24 horas. Após o período de congelamento, foram colocados em banho de água em agitação por 25 minutos a temperatura ambiente, até a estabilização da temperatura, mensurando-se a condutividade total. O extravasamento de eletrólitos foi calculado em percentagem de eletrólitos extravasados no início em relação ao final, após o congelamento das amostras. A análise de extravasamento de eletrólitos foi realizada diariamente nas folhas de manjeriço durante todo o período de armazenamento.

2.2.3- Determinação da concentração das clorofilas a e b:

A determinação das clorofilas totais foi realizada de acordo com a técnica de LICHTENTHALER (1987), com algumas modificações. Amostras foram retiradas da

lâmina foliar, com um perfurador de disco de 5mm de diâmetro, de 5 a 6 folhas de três regiões da planta, totalizando 10 discos por tratamento. Em condições de baixa luminosidade os pigmentos foram extraídos de tecidos foliares por maceração em almofariz e pistilo, contendo 2mL de acetona 80% na presença de carbonato de cálcio. Após maceração e filtragem, o papel de filtro foi lavado com acetona e o volume foi ajustado em balão volumétrico de 25mL. A densidade ótica dos filtrados foi analisada em espectrofotômetro a 663, 645 e 470nm. Posteriormente os valores de carotenoides foram transformados para mg/dm^2 de carotenoides no limbo foliar.

A conversão de valores de absorvância obtidos pelo espectrofotômetro aos valores de concentração de pigmentos (mg/dm^2), foi feita com as equações propostas por WELLBURN (1994):

$$\text{Clorofila a: } Ca = 12,19 * A_{665} - 3,45 * A_{649}$$

$$\text{Clorofila b: } Cb = 21,99 * A_{649} - 5,32 * A_{665}$$

$$\text{Carotenoides: } C = (1000 * A_{480} - 2,14 * Ca - 70,16 * Cb) / 221$$

2.2.4- Análise estatística:

O experimento foi instalado em esquema de parcelas subdivididas, tendo nas parcelas um esquema fatorial 2x2 (2 temperaturas, 2 embalagens) e nas subparcelas os tempos de avaliação no Delineamento Inteiramente Casualizado com quatro repetições.

Os dados foram analisados por meio de análise de variância e de regressão. As médias dos fatores qualitativos foram comparadas pelo teste de Tukey adotando o nível de 5% de probabilidade. Quanto aos fatores quantitativos, os modelos foram escolhidos baseados na significância dos coeficientes de regressão, utilizando o teste “t” adotando-se o nível de 10% de probabilidade no coeficiente de determinação e no comportamento do fenômeno em estudo. Independentemente da interação de maior grau ser ou não significativa, optou-se pelo desdobramento devido ao fator em estudo. Nas análises estatísticas foi utilizado o programa SAEG (2007).

2.3- RESULTADOS E DISCUSSÃO:

2.3.1- Perda de massa fresca:

Houve interação significativa entre as temperaturas e a utilização de embalagens plásticas PET durante os cinco dias de armazenamento das folhas de manjeriço. A

análise dos desdobramentos possibilitou compreender as interações pelo teste de médias (Tukey a 5% de significância) (Tabela 1).

Os valores de perda de massa fresca aumentaram com o período de armazenamento, independente da presença ou ausência de embalagem ou temperatura. Ocorreram maiores perdas de massa fresca nos tratamentos sem embalagens (Figuras 1 e 2). Além da perda de massa e murchamento dos produtos, a perda de massa fresca pode promover intensos efeitos fisiológicos, interferindo na capacidade respiratória, produção de etileno, degradação da clorofila e indução de alterações do padrão de síntese proteica (FRANÇA, 2011).

De todos os dias, a análise (1 a 5 dias) revelou diferença significativa na perda de massa fresca entre os tratamentos com embalagens plásticas em ambas as temperaturas de armazenamento. Os maiores valores de perda de massa fresca foram nos tratamentos sem utilização de embalagens, com as médias dos valores variando de 26,26% (temperatura ambiente) no primeiro dia a 70,48% (temperatura ambiente) no quinto dia (Tabela 1). Aliadas as temperaturas baixas, as embalagens plásticas diminuem a perda excessiva de água, diminuem a respiração e a produção de etileno, reduzindo assim a severidade dos sintomas da injúria por frio.

Tabela 1 – Médias de perda de massa fresca acumulada em manjericão variedade ‘Roxinho’ durante o armazenamento por cinco dias. (SE: sem utilização de embalagem; E: com utilização de embalagem). (Coeficiente de variação= 39,75%). Viçosa, Minas Gerais, 2015.

	TEMP. AMBIENTE	TEMP. 5 °C
SE	45,96 a	51,10 a
E	9,58 b	7,07 b

Médias seguidas de pelo menos uma letra em comum não diferem ao nível de 5% de probabilidade pelo teste de Tukey.

O provável aumento da concentração de CO₂ no interior da embalagem durante o armazenamento em baixas temperaturas foi responsável pela diminuição da injúria por frio. As embalagens, de forma geral, permitem reduzir a taxa respiratória ao incrementar a concentração de CO₂ no meio (BRACKMANN et al., 2012). A utilização de

embalagens de polietileno tereftalato (PET) reduz significativamente a perda de massa, aumentando assim a vida de prateleira de frutas e hortaliças (FRANÇA, 2011).

Nas temperaturas de armazenamento, a análise da interação com a utilização de embalagens, demonstrou não haver diferença significativa entre as perdas de massa fresca nos tratamentos que utilizaram o armazenamento do manjericão em embalagens plásticas. Assim, as perdas de massa nos tratamentos que utilizaram embalagens não tiveram diferença significativa a 5%, exceto no 5º dia de análise (Tabela 1). O armazenamento de manjericão nas condições de temperatura ambiente e com a utilização de embalagem plástica poderá ser opção viável e econômica com relação às perdas de massa fresca.

A resposta das plantas de manjericão em atmosfera modificada passiva (uso da embalagem) mostra que a manutenção da matéria fresca pode ser devido a aumento da umidade relativa do ar no interior da embalagem, saturando a atmosfera ao redor dos ramos destacados, causando diminuição do déficit de pressão do vapor de água em relação ao ambiente (SILVA et al., 2009; FERNÁNDEZ-LEÓN et al., 2013), e consequente diminuição da transpiração (SANTOS et al., 2008). Comportamento semelhante foi observado em atemóia cv. ‘Gefner’ (SILVA et al., 2009), pêssego cv. ‘Douradão’ (SANTOS et al., 2008), jabuticabas (MACHADO et al., 2007), floretes de brócolis cv. ‘Pushpa’ (NATH et al., 2011) e floretes de brócolis cv. ‘Parthenon’ (FERNÁNDEZ-LEÓN et al., 2013) quando armazenados com utilização de embalagens plásticas.

MESSIAS (2004) analisando o armazenamento de manjericão (*O. basilicum*) variedade “Semi-roxo” encontrou resultados semelhantes na perda de massa fresca, com a utilização de embalagens a perda acumulada ao longo de cinco dias foi 56,8%, e sem o uso de embalagens foi 63,3%. O mesmo autor fez os mesmos testes com a variedade ‘Branco’ e encontrou perdas de massa fresca de 20,4% com a utilização de embalagens e 29,8% sem embalagens.

A temperatura e a umidade relativa do ar são os fatores determinantes no controle de perda de água em frutas e hortaliças após a colheita. A redução da temperatura aumenta a conservação pós-colheita, pois diminui a diferença de pressão de vapor entre a planta e o meio, reduzindo a perda de água (WONGSHEREE et al., 2009).

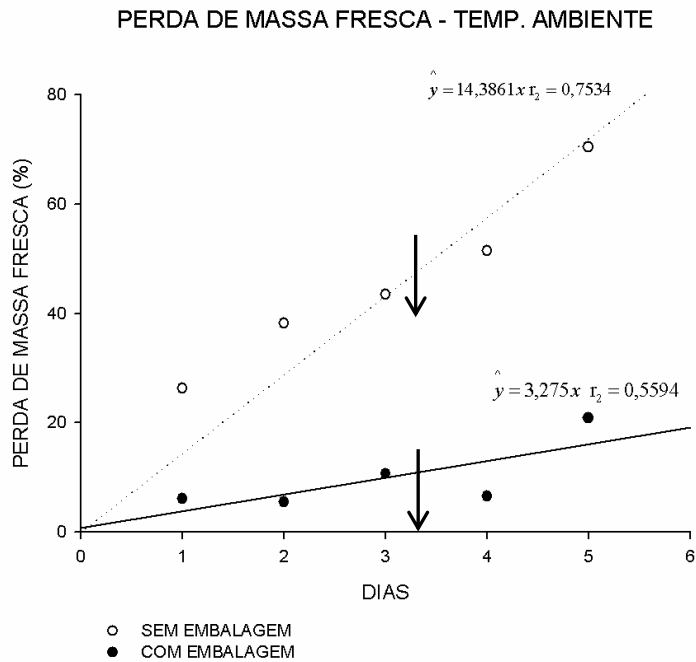


Figura 1- Análise de regressão da perda de massa fresca acumulada (%) de manjeriço variedade ‘Roxinho’ em função do tempo (0 a 5 dias), armazenado à temperatura ambiente, com e sem utilização de embalagens plásticas PET. As setas indicam o início da senescência. Viçosa, Minas Gerais, 2015.

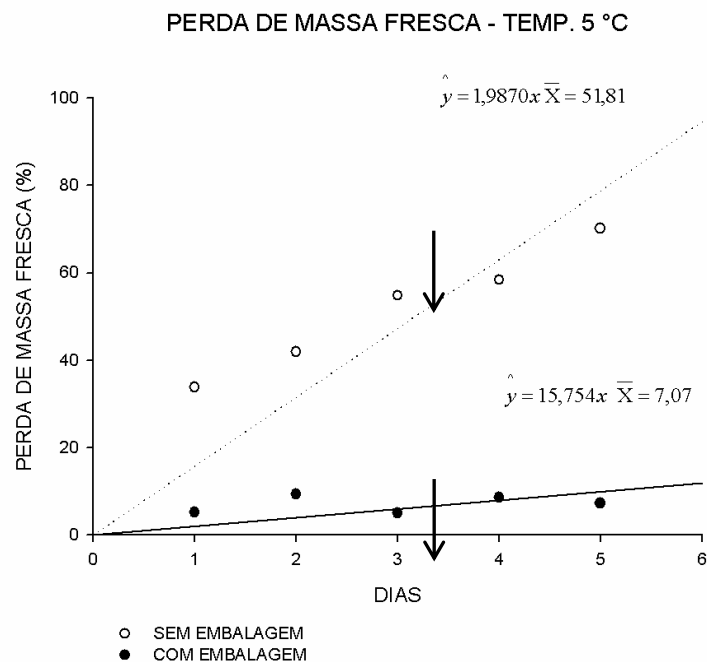


Figura 2- Análise de regressão da perda de massa fresca acumulada (%) de manjeriço variedade ‘Roxinho’ em função do tempo (0 a 5 dias), armazenado à temperatura de 5

°C, com e sem utilização de embalagens plásticas PET. As setas indicam o início da senescência. Viçosa, Minas Gerais, 2015.

2.3.2- Extravasamento de eletrólitos:

Os dados de extravasamento dos eletrólitos em ramos de manjeriço armazenados à temperatura ambiente e a 5 °C, com e sem a utilização de embalagens plásticas mostram que ocorreu interação significativa entre os fatores. Foi feita a análise dos desdobramentos visando compreender as interações no teste de médias (Tukey a 5% de significância) (Tabela 2). Fora comparadas também, as médias de cada tratamento com a testemunha (dia 0, planta fresca) pelo teste de Dunnett a 5% de significância (Tabela 3).

WHITLOW et al., (1992) observou que o objetivo de estudar o extravasamento de eletrólitos é avaliar a injúria, presumivelmente nas membranas, causadas pelo estresse ambiental. Respostas à injúria por frio são consideradas, na fase inicial, de natureza física, que inclui alterações de permeabilidade das membranas celulares.

Nas temperaturas de injúria por frio, há peroxidação de ácidos graxos da membrana plasmática, aumento das saturações, degradação de fosfolipídios e galactolipídios, e aumento da razão de esteroides em relação aos fosfolipídios reduzindo a fluidez da membrana. A exposição por longos períodos a temperaturas causadoras de injúria por frio leva a ruptura da membrana celular, extravasamento do conteúdo celular, íons e metabólitos, os quais são monitorados através do extravasamento de eletrólitos. O extravasamento de eletrólitos é parâmetro efetivo na avaliação da permeabilidade de membranas e é indicador da integridade de membranas (AGHDAM & BODBODAK, 2013). O extravasamento eletrólitos em condições de injúria por frio possui impactos na aparência das frutas e vegetais, causando amadurecimento anormal, manchas escurecidas ou pontuais (AGHDAM & BODBODAK, 2013).

O armazenamento a 5 °C provocou escurecimento nas folhas de manjeriço notado nas primeiras 24 horas após o armazenamento, semelhante a *O. citriodourum* nos experimentos à baixas temperaturas (WONGSHEREE et al., 2009).

Não houve diferença significativa entre os tratamentos com diferentes temperaturas e embalagens no primeiro dia de análise do armazenamento de folhas, onde o extravasamento de íons foi em média 53,42% nos tratamentos sem embalagem e 55,86% nos tratamentos com embalagem nas 24 horas após a colheita. O extravasamento de eletrólitos foi em torno de 50% no primeiro dia em todas as

amostras, o que pode ser relacionado ao estresse da colheita e aclimação das plantas à nova condição ambiental (Tabela 2). O aumento do extravasamento de eletrólitos pode ser relacionado à permeabilidade das membranas em virtude do estresse causado pela colheita e o envelhecimento natural das folhas (PASINI, 2012).

Resposta semelhante foi observado em rabanetes (*Raphanus sativus* L., cv. Longipinnatus) (XIAO et al., 2014), onde o extravasamento de eletrólitos no segundo dia de análise foi cerca de duas vezes maior do que o observado no quinto dia. Esse processo de diminuição do extravasamento de eletrólitos poderia significar a recuperação de danos da membrana celular nas fases iniciais do armazenamento (XIAO et al., 2014).

Tabela 2 – Médias do extravasamento de eletrólitos (%) e interação entre as variáveis temperatura e embalagem em manjeriço variedade ‘Roxinho’ durante o armazenamento no período de 1 a 5 dias. (SE: sem utilização de embalagem; E: com utilização de embalagem). (Coeficiente de variação= 23,12%). Viçosa, Minas Gerais, 2015.

Tempo de armazenamento (Dias)		Temperatura de armazenamento	
		Temp. ambiente	5 °C
1	SE	53,11Aa	53,73Aa
	E	50,53Aa	61,18Aa
2	SE	39,77Ba	42,92Aa
	E	62,29Aa	26,14Bb
3	SE	70,25Aa	24,11Bb
	E	46,80Bb	74,44Aa
4	SE	18,14Ba	16,47Ba
	E	74,90Aa	63,24Aa
5	SE	34,33Aa	38,30Ba
	E	45,63Aa	57,34Aa

Letras maiúsculas em uma mesma coluna comparam as médias de tratamento para cada dia. Letras minúsculas em uma mesma linha comparam as médias de cada tratamento para cada dia. Médias seguidas de pelo menos uma letra em comum não diferem ao nível de 5% de probabilidade pelo teste de Tukey.

No segundo dia houve diferença estatística entre os tratamentos com e sem o uso de embalagens plásticas nas amostras armazenadas à temperatura ambiente. Nas temperaturas a 5 °C o manjeriço armazenado sem embalagem teve média de extravasamento de eletrólitos superior aos tratamentos com embalagem (Tabela 2). Ocorreu diferença significativa entre o extravasamento de eletrólitos no uso ou não de embalagens entre as duas temperaturas de análise.

No dia 3, os tratamentos sem embalagem tiveram o extravasamento de eletrólitos superior na temperatura ambiente (70,25%). Na temperatura a 5 °C, o extravasamento de eletrólitos foi superior nas plantas embaladas (Figura 4). Na temperatura ambiente, houve maior extravasamento de eletrólitos nas plantas sem embalagem. Nas temperaturas a 5 °C não ocorreu diferença estatística com relação a variável embalagem (Tabela 2).

Nos dias 4 e 5 foram semelhantes no extravasamento de eletrólitos, e não variou significativamente entre as temperaturas na presença ou ausência de embalagem. Na temperatura ambiente, o extravasamento de eletrólitos foi superior nos tratamentos com embalagem. Há correlação desta resposta com a senescência, pois nos tratamentos sem embalagem, os ramos de manjeriço não estavam viáveis ao consumo, enquanto as plantas em embalagens plásticas que estavam no início da senescência.

A embalagem provocou resposta semelhante nos tratamentos com temperatura ambiente e temperatura a 5 °C, sem diferença significativa, exceto nos dias 2 e 3 (Tabela 2). Poderia haver relação com o início da senescência dos tecidos vegetais independente da temperatura de armazenamento. Nos tratamentos sem a utilização de embalagens plásticas, as plantas não mostram diferenças significativas entre as médias de extravasamento de eletrólitos durante o período de armazenamento, exceto no dia 3 (Tabela 2).

O extravasamento de eletrólitos de tecidos usualmente expressa às modificações das propriedades físicas das membranas celulares (MESSIAS, 2004). O comportamento oscilante das plantas em embalagens evidenciou a similaridade entre as temperaturas ambiente e 5 °C (Figuras 3 e 4). Dessa forma, como relata MESSIAS (2004), a variável extravasamento de eletrólitos parece não estar associada ao aparecimento de sintomas visuais de injúria por frio ou a resistência varietal. Estes resultados reforçam a hipótese de que mudanças na estrutura das membranas podem ou não levar a respostas secundárias ou mudanças irreversíveis, dependendo de temperatura, tempo de exposição e susceptibilidade genética.

Tabela 3- Médias de extravasamento de eletrólitos (%) ao longo de 5 dias de análise nos tratamentos TA-SE (temperatura ambiente sem embalagem), TA-E (temperatura ambiente com embalagem), 5 °C-SE (5 °C sem embalagem) e 5 °C-E (5 °C com embalagem) em manjeriço (*O. basilicum* L.). Viçosa, Minas Gerais, 2015.

TRATAMENTOS	MÉDIAS (%)
TESTEMUNHA (D0)	62.73
D1(TA-SE)	53.11 ^{ns}
D1(TA-E)	50.53 ^{ns}
D1(5 °C-SE)	53.73 ^{ns}
D1(5 °C-E)	61.18 ^{ns}
D2(TA-SE)	39.77*
D2(TA-E)	62.29 ^{ns}
D2(5 °C-SE)	42.92 ^{ns}
D2(5 °C-E)	26.14*
D3(TA-SE)	70.25 ^{ns}
D3(TA-E)	46.80 ^{ns}
D3(5 °C-SE)	24.11*
D3(5 °C-E)	74.44 ^{ns}
D4(TA-SE)	18.14*
D4(TA-E)	74.90 ^{ns}
D4(5 °C-SE)	16.47*
D4(5 °C-E)	63.24 ^{ns}
D5(TA-SE)	34.33*
D5(TA-E)	45.63 ^{ns}
D5(5 °C-SE)	38.30*
D5(5 °C-E)	57.34 ^{ns}

As médias com asterisco (*) na coluna diferem da testemunhas ao nível de 5% de significância pelo teste de Dunnett.

Pelo teste de Dunnett foram comparadas as médias dos tratamentos com a testemunha (dia 0, planta fresca) a 5% de significância (Tabela 3). Os tratamentos que

diferiram da testemunha foram com plantas sem uso de embalagens plásticas PET, na temperatura ambiente e a 5 °C.

O processo de senescência é consequente da peroxidação de ácidos graxos, que resulta na formação de radicais livres, é um dos principais processos de deterioração de membranas. Ácidos graxos são propensos a atividade de lipoxigenases e ao aumento na produção de radicais livres em tecidos vegetais senescentes. Mudanças na composição dos lipídeos de membrana resultam em diminuição da fluidez, afetando a funcionalidade das proteínas associadas (MARANGONI et al., 1996).

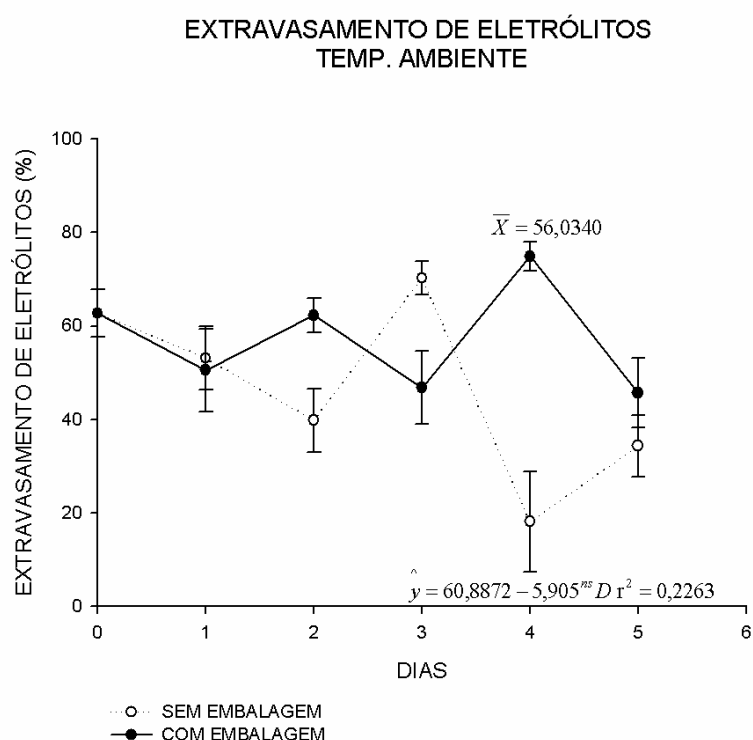


Figura 3- Análise de regressão do extravasamento de eletrólitos (%) de manjeriço variedade 'Roxinho' sem a utilização de embalagens plásticas, em função do tempo (0 a 5 dias), armazenado à temperatura ambiente. As barras verticais correspondem ao erro. Viçosa, Minas Gerais, 2015.

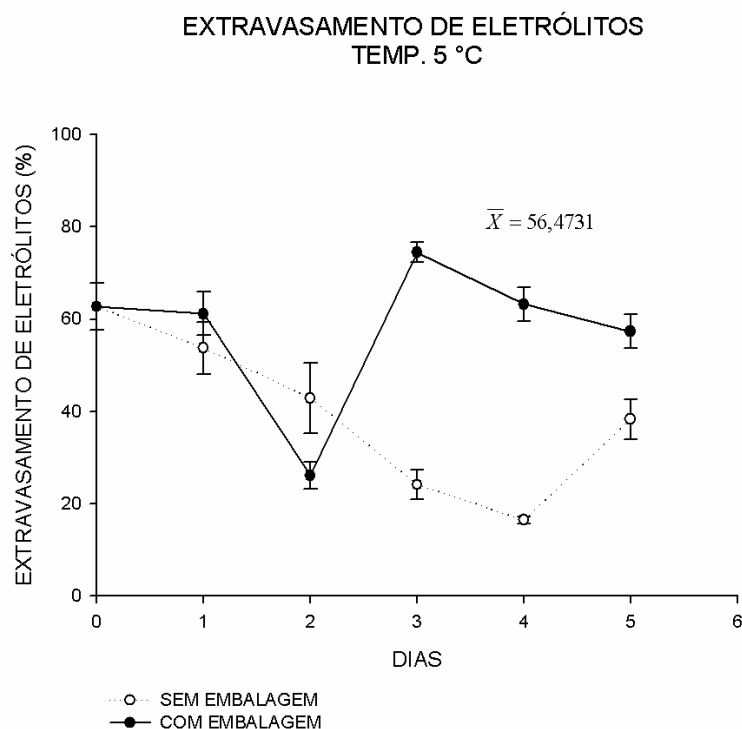


Figura 4- Análise de regressão do extravasamento de eletrólitos (%) de manjeriço variedade 'Roxinho' sem a utilização de embalagens plásticas, em função do tempo (0 a 5 dias), armazenado à temperatura de 5 °C. As barras verticais correspondem ao erro. Viçosa, Minas Gerais, 2015.

Aumentos nas taxas de extravasamento de eletrólitos e solutos ocorrem em tecidos afetados pela injúria por frio, e são utilizados como parâmetros indicadores do dano em membranas (CAMPOS et al., 2003; LUO et al., 2012). Em estudos com broto de bambu (*Phyllostachys praecox* F. prevernalis.), o extravasamento de eletrólitos avaliado pela condutividade elétrica relativa aumentou durante o armazenamento à temperatura de refrigeração (LUO et al., 2012).

2.3.3- Determinação da concentração das clorofilas a e b:

As clorofilas são os pigmentos naturais mais abundantes presentes nas plantas e ocorrem nos cloroplastos. Estudos em uma grande variedade de plantas caracterizam que os pigmentos clorofilianos são os mesmos (CASSETARI, 2012). As diferenças aparentes na cor dos vegetais ocorrem devido à presença, e à distribuição variável de outros pigmentos associados, tal como carotenoides. A clorofila relaciona-se diretamente com a atividade fotossintética nas plantas. Desta maneira, o estado

nutricional das plantas está associado com a concentração de clorofila (CASSETARI, 2012).

As clorofilas não são moléculas isoladas, compreendendo uma família de compostos químicos semelhantes, chamadas clorofilas a, b, c e d. A clorofila a é a mais abundante e mais importante dessa família, e corresponde a aproximadamente 75% dos pigmentos de coloração verde encontrados nos vegetais (CASSETARI, 2012).

O teor de clorofilas é influenciado por fatores bióticos e abióticos, estando diretamente relacionado com o potencial da atividade fotossintética das plantas (CASSETARI, 2012). A senescência é o processo que se segue à maturidade fisiológica e que culmina com a morte de toda a planta, órgão, tecido ou célula. Ela é indicada pela perda de clorofila e amarelecimento das folhas. A senescência leva a degradação das proteínas, com liberação e acúmulo de aminoácidos, degradação de clorofila e de outros compostos essenciais para a manutenção da qualidade do vegetal (FRANÇA, 2011).

A senescência natural é iniciada em folhas não destacadas como parte do desenvolvimento normal da planta, ou como resposta inata a condições externas de estresse. No armazenamento pós-colheita, as folhas destacadas passam pelo processo acelerado de senescência após o destacamento de órgão, e é induzido em folhas armazenadas pelas diversas condições de estresse impostas (FRANÇA, 2011).

A análise das médias acumuladas da concentração clorofilas a e b durante os cinco dias de armazenamento pós-colheita não diferiu entre as condições de armazenamento testadas a 5% de probabilidade pelo teste de Tukey (Tabelas 4 e 5). Resultados semelhantes são citados por CURUTCHET et al., 2014, em análise das clorofilas a e b das espécies *Mentha piperita* e *M. spicata*, durante armazenamento pós-colheita em ambiente refrigerado.

Tabela 4 – Médias de concentração de clorofila a (mg/dm^2) em manjericão variedade ‘Roxinho’ durante o armazenamento por cinco dias. (SE: sem utilização de embalagem; E: com utilização de embalagem). (Coeficiente de variação= 19,32%). Viçosa, Minas Gerais, 2015.

	TEMP. AMBIENTE	TEMP. 5 °C
SE	1,13 a	1,12 a
E	1,31 a	1,34 a

Médias seguidas de pelo menos uma letra em comum não diferem ao nível de 5% de probabilidade pelo teste de Tukey.

No entanto, foram observadas diferenças visuais, com maior manutenção da qualidade das folhas de manjericão (*O. basilicum* L.) no armazenamento com utilização de embalagens plásticas, tanto na temperatura ambiente, quanto a 5 °C.

Para a clorofila a, a maior concentração média ao longo de cinco dias de armazenamento ocorreu à temperatura de 5 °C com utilização de embalagem (Tabela 4). As perdas pós-colheita de espécies folhosas podem ser reduzidas com a utilização do armazenamento refrigerado. A redução da temperatura proporciona menor gradiente de pressão de vapor de água entre a planta e o meio, minimizando as perdas de água das espécies folhosas. A refrigeração atua também diminuindo a taxa respiratória, a produção de etileno, e a intensidade da senescência e atividade microbiana (KALBASIASHTARI, 2004).

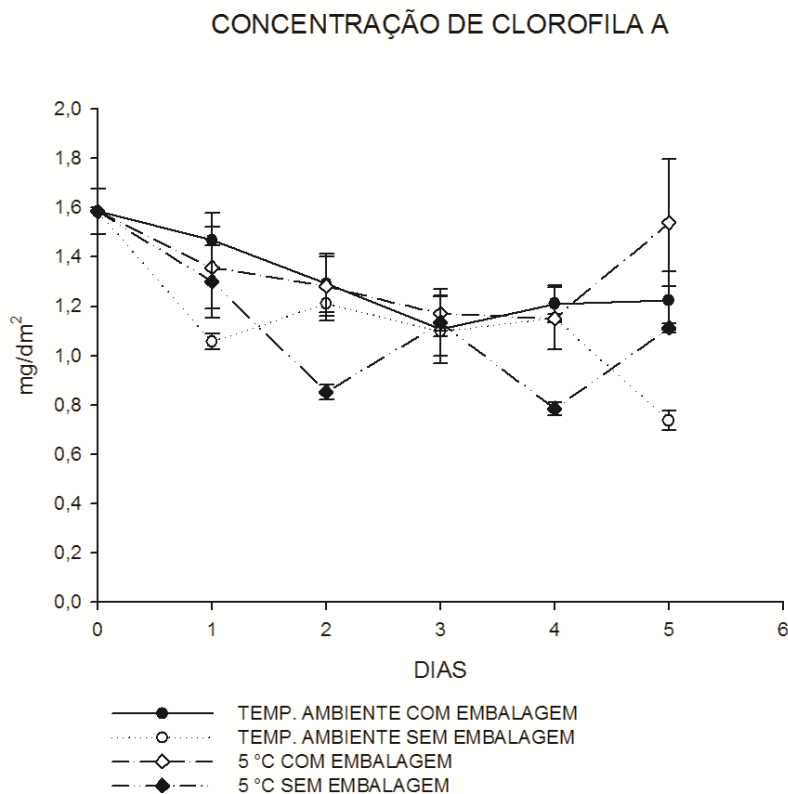


Figura 5- Variação da concentração de clorofila a (mg/dm^2) de manjeriço variedade ‘Roxinho’ com e sem a utilização de embalagens plásticas, em função do tempo (0 a 5 dias), armazenado nas temperatura ambiente e a 5 °C. As barras verticais correspondem ao erro. Viçosa, Minas Gerais, 2015.

De forma geral, em todas as condições de armazenamento houve decréscimo na concentração da clorofila a ao longo dos cinco dias de armazenamento pós-colheita, exceto para 5 °C com utilização de embalagens, confirmando que, mesmo com os efeitos da injúria causada pelas baixas temperaturas, há manutenção da qualidade das clorofilas na refrigeração (Figura 5).

Tabela 5 – Médias de concentração de clorofila b (mg/dm^2) em manjeriço variedade ‘Roxinho’ durante o armazenamento por cinco dias. (SE: sem utilização de embalagem; E: com utilização de embalagem). (Coeficiente de variação= 18,77%). Viçosa, Minas Gerais, 2015.

	TEMP. AMBIENTE	TEMP. 5 °C
SE	1,61 a	1,40 a
E	1,63 a	1,71 a

Médias seguidas de pelo menos uma letra em comum não diferem ao nível de 5% de probabilidade pelo teste de Tukey.

Para a clorofila b, a maior concentração média ao longo de cinco dias de armazenamento ocorreu à temperatura de 5 °C utilização de embalagem (Tabela 5). A utilização de embalagens plásticas combinadas ao armazenamento refrigerado, além de promover proteção ao alimento, diminuem as taxas de senescência e consequentemente a degradação de clorofila durante o armazenamento pós-colheita (FRANÇA, 2011).

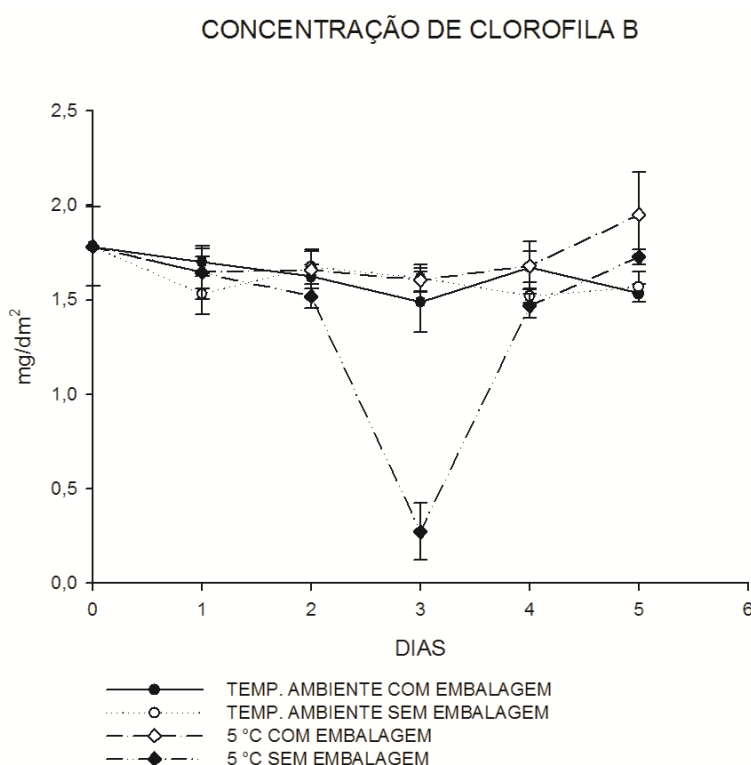


Figura 6- Variação da concentração de clorofila b (mg/dm^2) de manjeriço variedade ‘Roxinho’ com e sem a utilização de embalagens plásticas, em função do tempo (0 a 5

dias), armazenado nas temperatura ambiente e a 5 °C. As barras verticais correspondem ao erro. Viçosa, Minas Gerais, 2015.

As médias de clorofila b tiveram pouca oscilação durante o armazenamento pós-colheita de manjericão durante cinco dias de análise, variando de 1,61 a 1,71 mg/dm², no entanto, o armazenamento a 5 °C sem utilização de embalagens demonstrou médias inferiores, chegando a 1,40 mg/dm².

Assim, com relação à manutenção da qualidade visual, os consumidores são atraídos por produtos que conservam as características da planta fresca, rejeitando assim produtos amarelados, com manchas e injúrias mecânicas (CASSETARI, 2012). Desta forma, de acordo com os resultados anteriormente apresentados, o manjericão armazenado à temperatura de 5 °C com utilização de embalagens plásticas mantem a maior concentração de clorofilas a e b durante a pós-colheita.

2.4- Conclusões:

- Os maiores valores de perda de massa fresca relativa do manjeriço no armazenamento pós-colheita ocorreram na ausência de embalagens plásticas;
- O armazenamento pós-colheita de manjeriço à temperatura ambiente em embalagens plásticas é opção viável e econômica com relação às perdas de massa fresca relativa;
- O manjeriço armazenado à temperatura de 5 °C com utilização de embalagens plásticas mantém a maior concentração de clorofilas a e b durante a pós-colheita;
- A utilização de embalagens plásticas permitiu maior conservação pós-colheita e menor extravasamento de eletrólitos nas temperaturas de armazenamento testadas, retardando a senescência dos tecidos.

2.5- REFERÊNCIAS:

AGHDAM, M.; BODBODAK, S. Physiological and biochemical mechanisms regulating chilling tolerance in fruits and vegetables under postharvest salicylates and jasmonates treatments. **Scientia Horticulturae**, v. 156, p. 73–85, 2013.

AGHDAM, M.S.; SEVILLANO, L.; FLORES, F.B.; BODBODAK, S. Heat shock proteins as biochemical markers for postharvest chilling stress in fruits and vegetables. **Scientia Horticulturae**, v. 160, p. 54–64, 2013.

AGÊNCIA NACIONAL DE VIGILÂNCIA SANITÁRIA. 2010. **Farmacopéia Brasileira**. Brasília: ANVISA, 546p. v.1/il.

ANTUNES, M.D.C.; SFAKIOTAKIS, E.M. Changes in fatty acid composition and electrolyte leakage of ‘Hayward’ kiwifruit during storage at different temperatures. **Food Chemistry**, v.110, p. 891–896, 2008.

BERNHARDT, B.; FAZEKAS, G.; LADÁNYI, M.; INOTAI, K.; ZÁMBORI-NÉMETH, É.; BERNÁTH, J.; SZABÓ, K. Morphological, chemical and RAPD-PCR evaluation of eight different *Ocimum basilicum* L. gene bank accessions. **Journal of Applied Research on Medicinal and Aromatic Plants**, v.1, p. 23–29, 2014.

BRACKMANN, A.; BOTH, V.; WEBER, A.; PAVANELLO, E.O.; SCHORR, M.R.W.; SANTOS, J.R.A. Variação da temperatura, oxigênio e CO₂ durante o armazenamento em atmosfera controlada de maçãs ‘Royal Gala’. **Ciências Agrárias**, v. 33, n. 6, p. 2247-2256, 2012.

BEKHRADI, F.; LUNA, M.C.; DELSHAD, M.; JORDAN, M.J.; SOTOMAYOR, J.A.; MARTÍNEZ-CONESA, C.; GIL, M.I. Effect of deficit irrigation on the postharvest quality of different genotypes of basil including purple and green Iranian cultivars and a Genovese variety. **Postharvest Biology and Technology**, v.100, p. 127–135, 2015.

CASSETARI, Luciana de Souza. Teores de clorofila e β -caroteno em cultivares e linhagens de alface. 2012. 67f. 44f. Dissertação (Mestrado em Fitotecnia) – Universidade Federal de Lavras, Lavras.

COSTA, L.; MONTANO, Y.M.; CARRIÓN, C.; ROLNY, N.; GUIAMET, J.J. Application of low intensity light pulses to delay postharvest senescence of *Ocimum basilicum* leaves. **Postharvest Biology and Technology**, v. 86, p. 181–191, 2013.

CURUTCHET, A.; DELLACASSA, E.; RINGUELET, J.A.; CHAVES, A.R.; VIÑA, S.Z. Nutritional and sensory quality during refrigerated storage of fresh-cut mints (*Mentha piperita* and *M. spicata*). **Food Chemistry**, v. 143, p. 231–238, 2014.

DING, Y.; VEEMANM M.M.; ADAMOWICZ, W.L. Functional food choices: Impacts of trust and health control beliefs on Canadian consumers choices of canola oil. **Food Policy**, v.52, p. 92–98, 2015.

EKREN, S.; SÖNMEZ, Ç.; OZÇAKAL, E.; KURTTAS, Y.S.K.; BAYRAM, E.; GÜRGÜLÜ, H. The effect of different irrigation water levels on yield and quality characteristics of purple basil (*Ocimum basilicum* L.). **Agricultural Water Management**, v. 109, p. 155– 161, 2012.

FERNÁNDEZ-LEÓN, M.F.; FERNÁNDEZ-LEÓN, A.M.; LOZANO, M.; AYUSO, M.C.; AMODIO, M.L.; COLELLI, G.; GONZÁLEZ-GÓMEZ, D. Retention of quality and functional values of broccoli ‘Parthenon’ stored in modified atmosphere packaging. **Food Control**, v. 31, p. 302-313, 2013.

FILIP, S.; VIDOVI, S.; ADAMOVIC, D.; ZEKOVIC, Z. Fractionation of non-polar compounds of basil (*Ocimum basilicum* L.) by supercritical fluid extraction (SFE). **Journal of Supercritical Fluids**, v. 86, p. 85– 90, 2014.

FRANÇA, Christiane de Fátima Martins. Conservação e qualidade pós-colheita em duas Variedades de alface submetidas ao hidrosfriamento. 2011. 44f. Dissertação (Mestrado em Fitotecnia) – Universidade Federal de Viçosa, Viçosa.

HASSAN, F.A.S.; MAHFOUZ, S.A. Effect of 1-methylcyclopropene (1-MCP) treatment on sweet basil leaf senescence and ethylene production during shelf-life. **Postharvest Biology and Technology**, v. 55, p. 61–65, 2010.

LEWINSOHN, E.; ZIV-RAZ, I.; DUDAI, N.; TADMOR, Y.; LASTOCHKIN, E.; LARKOV, O.; CHAIMOVITSH, D. RAVID, U.; PUTIEVSKY, E.; PICHERSKY, E.; SHOHAM, Y. **Plant Science**, v.160, n.1. p.27-35, 2000.

LUO, Z.; WU, X.; XIE, Y.; CHEN, C. Alleviation of chilling injury and browning of postharvest bamboo shoot by salicylic acid. **Food Chemistry**, v. 131, p. 456–461, 2012.

MACHADO, N.P.; COUTINHO, E.F.; CAETANO, E.R. Embalagens plásticas e refrigeração na conservação pós-colheita de jaboticabas. **Revista Brasileira de Fruticultura**, v. 29, n. 1, p. 166-168, 2007.

MARANGONI, A.G.; PALMA, T.; STANLEY, D.W. Membrane effects in postharvest physiology. **Postharvest Biology and Technology**, v. 7, p. 193-217, 1996.

MESSIAS, UELITON. Resposta pós-colheita à injúria por frio de três cultivares de manjeriço (*Ocimum basilicum* L.). 2004. 36f. Dissertação (Mestrado em Fisiologia Vegetal) – Universidade Federal de Viçosa, Viçosa.

NATH, A.; BAGCHI, B.; MISRA, L.K.; DEKA, B.C. Changes in post-harvest phytochemical qualities of broccoli florets during ambient and refrigerated storage. **Food Chemistry**, v. 127, p. 1510–1514, 2011.

NGASSOUMA, Martin B.; OUSMAILA, H.; NGAMO, Leonard T.; MAPONMETSEM, Pierre M.; JIROVETZC, Leopold.; BUCHBAUERC, Gerhard. Aroma compounds of essential oils of two varieties of the spice plant *Ocimum canum* Sims from northern Cameroon. **Journal of Food Composition and Analysis**, v.17, p. 197–204, 2004.

NGUYEN, P.M.; KWEE, E.M.; NIEMEYER, E.D. Potassium rate alters the antioxidant capacity and phenolic concentration of basil (*Ocimum basilicum* L.) leaves. **Food Chemistry**, v. 123, p. 1235–1241, 2010.

PASINI, JOSIANE. Avaliação de danos mecânicos nas etapas de transporte, beneficiamento e comercialização de peras. 2012. 112f. Dissertação (Mestrado em Fitotecnia) – Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre.

SAEG. Sistema para Análises Estatísticas, Versão 9.1: Fundação Arthur Bernardes - UFV - Viçosa, 2007.

SANTOS, C.A.A.; CASTRO, J.V.; PICOLI, A.A.; ROLIM, G.S. Uso de quitosana e embalagem plástica na conservação pós-colheita de pêssegos ‘Douradão’. **Revista Brasileira de Fruticultura**, v. 30, n. 1, p. 88-93, 2008.

SANTOS, C.M.G.; BRAGA, C.L.; VIEIRA, M.R.S.; CERQUEIRA, R.C.; BRAUER, R.L.; LIMA, G.P.P. Qualidade da alface comercializada no município de Botucatu - SP. **Revista Ibero-americana de Tecnología Postcosecha**, v.11, n.1, p. 67-74, 2010.

SIGMA-ALDRICH. Basil oil.
<<http://www.sigmaaldrich.com/catalog/product/aldrich/w211901?lang=pt®ion=BR>>

SILVA, A.V.C.; ANDRADE, D.G.; YAGUIU, P.; CARNELOSSI, M.A.G.; MUNIZ, E.; MUNIZ, E.N.; NARAIN, N. Uso de embalagens e refrigeração na conservação de atemóia. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v. 29, n. 2, p. 300-304, 2009.

SIVAKUMAR, D.; BAUTISTA-BAÑOS. A review on the use of essential oils for postharvest decay control and maintenance of fruit quality during storage. **Crop Protection**, v. 64, p. 27-37, 2014.

TELICI, I.; BAYRAM, E.; YILMAZ, G.; AVCI, B. Variability in essential oil composition of Turkish basils (*Ocimum basilicum* L.). **Biochemical Systematics and Ecology**, v. 34, p. 489e497, 2006.

WHITLOW, T.H.; BASSUK, N.L.; RANNEY, T.G.; REICHERT, D.L. An improved method for using electrolyte leakage to assess membrane competence in plant tissues. **Plant Physiology**, v.98, p. 198-205, 1992.

WONGSHEREE, T.; KETSA, S.; VAN DOORN, W.G. The relationship between chilling injury and membrane damage in lemon basil (*Ocimum × citriodourum*). **Postharvest Biology and Technology**, v. 51, p. 91–96, 2009.

XIAO, Z.; LUO, Y.; LESTER, G.E.; KOU, L.; YANG, T.; WANG, Q. Postharvest quality and shelf life of radish microgreens as impacted by storage temperature, packaging film, and chlorine wash treatment. **LWT - Food Science and Technology**, v. 55, p. 551-558, 2014.

3- Capítulo 2: Avaliação da capacidade antioxidante do manjericão (*O. basilicum* L.) através dos mecanismos enzimáticos e antioxidantes endógenos

RESUMO

O manjericão sendo planta tropical é sensível à injúria por frio. De modo a manter homeostase dos níveis de espécies reativas de oxigênio (EROs) nas células vegetais, há duas linhas de defesa, a primeira, inclui a presença de enzimas de detoxificação de EROs, enquanto que a segunda é a presença de antioxidantes endógenos. O trabalho teve como objetivo avaliar a capacidade antioxidante em manjericão (*O. basilicum* L.) variedade 'Roxinho', pela avaliação dos mecanismos enzimáticos e pela concentração de antioxidantes endógenos ao longo de cinco dias de pós-colheita, nas temperaturas ambiente e a 5 °C, com e sem utilização de embalagens plásticas. O delineamento experimental foi inteiramente casualizado em esquema fatorial 2x2 (2 temperaturas, 2 embalagens) e nas subparcelas os tempos de avaliação. Foi avaliada a atividade das enzimas polifenol oxidase (PPO), peroxidase (POD), catalase (CAT) e superóxido dismutase (SOD) e as concentrações dos teores de compostos fenólicos, flavonoides, antioxidantes totais e carotenoides. As folhas de manjericão tiveram maior concentração de compostos fenólicos no armazenamento à temperatura ambiente. A concentração de flavonoides teve aumento ao longo do armazenamento pós-colheita em todos os tratamentos, exceto no armazenamento a 5 °C com embalagens. Houve maior atividade antioxidante nas folhas armazenadas à temperatura ambiente. A atividade da POD aumentou nos tratamentos com embalagens, nas duas temperaturas de armazenamento. As atividades da CAT e SOD aumentaram nas plantas sem embalagens, nas duas temperaturas de armazenamento. A atividade enzimática da PPO foi maior na temperatura de 5 °C nas plantas sem embalagem. A concentração de carotenoides foi maior nas plantas à temperatura de 5 °C sem embalagens. De acordo com os resultados obtidos, manjericão (*O. basilicum* L.) variedade 'Roxinho' pode ser armazenado à temperatura ambiente por dias até cinco com utilização de embalagens plásticas.

3.1- INTRODUÇÃO

Grande parte da população global tem preferência pelo consumo de frutas e vegetais frescos, resultando em grande demanda de cultivo e mercado. A deterioração pós-colheita durante o armazenamento é a maior das causas de perdas dos produtos hortícolas que resulta em significantes prejuízos econômicos (SIVAKUMAR & BAUTISTA-BAÑOS, 2014). O manjeriço, comparado a outras espécies folhosas, é relativamente sensível a baixas temperaturas, e ao escurecimento das folhas (WONGSHEREE et al., 2009).

O manjeriço é sensível à injúria por frio, pois se trata de planta tropical. Temperaturas inferiores a 12 °C causam o desenvolvimento desta injúria, caracterizada visualmente por lesões de pontos escuros nas folhas, seguido de decaimento (HASSAN & MAHFOUZ, 2010). A injúria por frio pode ocorrer durante o armazenamento após a colheita, no transporte à longa distância, no armazenamento em mercados, na exposição de venda e nos refrigeradores dos consumidores (PADDA & PICHA, 2008).

As mudanças fisiológicas causadas pela injúria por frio são frequentemente relacionadas com aumento na permeabilidade das membranas, afetando a integridade, e a compartimentalização celular em situações de estresse, com consequente perda de estrutura dos tecidos (CAMPOS et al., 2003; CAO et al., 2011). A injúria por frio causa alterações dos processos metabólicos, como decréscimo da atividade enzimática, redução da capacidade fotossintética e mudanças na fluidez das membranas (CAMPOS et al., 2003). A composição química das membranas, em particular a composição de ácidos graxos, determina a temperatura de mudança da fase gel ao líquido cristalino. Essa transição entre as fases físicas das membranas celulares determinada pela temperatura tem sido entendida como a causa da perda de semipermeabilidade, e consequente perda da compartimentalização celular (WONGSHEREE et al., 2009; CAO et al., 2011).

Baixas temperaturas podem induzir o aumento na produção de etileno em plantas sensíveis e mudanças nos níveis de enzimas solúveis, tal como a enzima fenilalanina amônia-licase (PAL). A indução da atividade da PAL e de etileno, em resposta a condições de estresse, são considerados mecanismos defensivos das plantas ao estresse. PAL e etileno são associados às desordens fisiológicas relacionadas a alterações no metabolismo de fenóis. A atividade de enzimas fenólicas como peroxidase

e polifenoloxidase podem aumentar as repostas ao etileno e aos estresses bióticos e abióticos (MATINÉZ-TÉLLEZ et al., 1997).

Condições de estresse abiótico induzem a aumento na defesa antioxidante em plantas (VAN DOORN & KETSA, 2014; KAUPPANAPANDIAN et al., 2011). Durante o estresse oxidativo parte dos elétrons escapa da cadeia respiratória, resultando na redução parcial do oxigênio molecular, causando produção de espécies reativas de oxigênio (EROs) citotóxicas às plantas (SOARES & MACHADO, 2007; VAN DOORN & KETSA, 2014; KAUPPANAPANDIAN et al., 2011; O'BRIEN et al., 2012).

De modo a manter homeostase dos níveis de EROs nas células vegetais, há duas linhas de defesa, não mutuamente exclusivas. A primeira inclui a presença de enzimas que promovem a detoxificação de EROs, tais como superóxido dismutase (SOD), ascorbato peroxidase (APX), peroxidase (POD), glutatona redutase (GSH), peroxiredoxina (Prx), catalase (CAT), polifenol oxidase (PPO) glutatona peroxidase (GPX), monodehidroascorbato redutase (MDHAR) e dehidroascorbato redutase (DHAR) (SOARES & MACHADO, 2007; CAO et al., 2011; VAN DOORN & KETSA, 2014; VAN DOORN & KETSA, 2014; O'BRIEN et al., 2012).

A segunda consiste na presença de antioxidantes endógenos, alguns dos quais são substratos das enzimas antioxidantes, enquanto outros podem agir independentemente das enzimas, como por exemplo, fenóis, antocianinas, glutatona, ácido ascórbico, α -tocoferol, carotenoides e compostos fenólicos (VAN DOORN & KETSA, 2014).

Dentre as enzimas antioxidativas é destaque POD, PPO, SOD e CAT. As PPOs fazem parte de grande grupo de enzimas conhecidas como oxidoredutases (SANTOS, 2009). É a enzima chave na biossíntese de melanina e no escurecimento de frutas e vegetais. Catalisa dois tipos de reações utilizando oxigênio molecular: a hidroxilação de monofenóis a o-difenóis (atividade creolase); e a oxidação de o-difenóis a o-quinonas (atividade catecolase) (LATORRE et al., 2010).

A PPO é encontrada nos plastídios em tecidos saudáveis e somente na degeneração ou em tecido senescente ocorre livre no citoplasma. O fato da PPO e seus substratos estarem presentes em diferentes compartimentos celulares faz com que o escurecimento enzimático seja consequente da desintegração dos tecidos. A integridade da membrana é perdida após danos causados nos tecidos durante a senescência ou injúria resultando na destruição da barreira biológica entre a PPO e seus substratos,

causando a rápida oxidação de fenóis e consequente produção de pigmentos escuros (SANTOS, 2009).

A CAT enzima oxidoreductase, contém grupo heme, que catalisa a dismutação de H_2O_2 a H_2O (KAUPPANAPANDIAN et al., 2011; VALENTE, 2012). CAT remove o H_2O_2 gerado nos peroxissomos pelas oxidases envolvidas nas β -oxidações dos ácidos graxos, fotorrespiração, catabolismo de purina e durante o estresse oxidativo (POMPEU, 2005; KAUPPANAPANDIAN et al., 2011).

A família das metaloenzimas SOD catalisa a desprotonação do O_2^- a H_2O_2 e O_2 , e estão presentes em todos os organismos aeróbicos e componentes subcelulares susceptíveis ao estresse oxidativo. SODs são classificadas em três tipos baseadas em seus cofatores metálicos, dois desses são similares Fe-SOD (localizados nos cloroplastos) e Mn-SOD (localizados nas mitocôndrias), e outro que não é relacionado estruturalmente Cu/Zn-SOD (localizado nos cloroplastos, peroxissomos e citosol) (CATANEO et al., 2005; POMPEU, 2005). Embora essas isoenzimas sejam diferentes em sua sensibilidade ao H_2O_2 e ao cianeto de potássio (KCN), todas as três são codificadas pelo núcleo celular (KAUPPANAPANDIAN et al., 2011).

Compostos fenólicos compõem grande e diverso grupo de compostos bioativos, que incluem várias diferentes famílias de metabólitos secundários aromáticos em plantas, que podem ocorrer nas três formas, livre, solúvel conjugado e insolúvel ligado (KAISOON et al., 2011). São potentes antioxidantes capazes de realizar o sequestro de espécies reativas de oxigênio (SIBOZA et al., 2014).

Os flavonoides desempenham função fundamental na proteção contra agentes oxidantes, como por exemplo, raios ultravioleta, poluição ambiental, substâncias químicas tóxicas, atuando também como agentes terapêuticos muitas patologias de humanos (ROCHA, 2010). São antioxidantes muito efetivos, ocorrem em grande grupo natural na classe dos fenólicos que incluem flavonas, flavonoides, isoflavonas, flavononas e chalconas. Flavonoides contêm a estrutura característica de C6-C3-C6, com grupos hidroxilas livres ligados aos anéis aromáticos que inibem a oxidação lipídica pelo sequestro de radicais livres ou por outros mecanismos como a extinção de singletos de oxigênio, quelação de metais e inibição da lipoxigenase (KAISOON et al., 2011).

Carotenoides são compostos lipofílicos localizados nos plastídios, podem ser fotossintéticos ou não. Exercem várias funções no metabolismo, incluindo tolerância ao estresse oxidativo. São também conhecidos como moléculas antenas, e absorvem a luz

na região 450-570nm do espectro visível, transferem e dissipam a energia capturada nas moléculas de clorofila (KAUPPANAPANDIAN et al., 2011).

Esse trabalho teve como objetivo avaliar a capacidade antioxidante em manjericão (*O. basilicum* L.) variedade ‘Roxinho’, pela avaliação dos mecanismos enzimáticos das enzimas PPO, POD, CAT e SOD e pelo comportamento das concentrações de compostos fenólicos, flavonoides e antioxidantes totais ao longo de cinco dias de pós-colheita, nas temperaturas ambiente e a 5 °C, com e sem utilização de embalagens plásticas.

3.2- MATERIAL E MÉTODOS:

Manjericão variedade “Roxinho” (*O. basilicum* L.), foi cultivado no Vale da Agronomia UFV, Viçosa, Minas Gerais, nos meses de agosto a novembro de 2014. Após a colheita, os ramos de manjericão foram transferidos ao laboratório, onde foi feita a organização dos tratamentos.

Os tratamentos foram: armazenamento a temperatura ambiente sem embalagem (TA-SE); armazenamento a temperatura ambiente com embalagem (TA-E); armazenamento a 5 °C sem embalagem (5 °C-SE); e armazenamento a 5 °C com embalagem (5 °C-E). Todos os tratamentos foram feitos com quatro repetições.

Os experimentos foram realizados no Laboratório de Pós-colheita do Departamento de Fitotecnia da Universidade Federal de Viçosa, entre dezembro de 2014 a abril de 2015.

Os ramos de manjericão com e sem a utilização de embalagens plásticas foram armazenados por 0 a 5 dias à temperatura ambiente e à temperatura de 5 °C. O processo da indução à injúria por frio (chilling) foi quantificado diariamente. Após a refrigeração, as unidades amostrais foram retiradas dos refrigeradores e avaliadas após a permanência de 2 horas à temperatura ambiente.

Amostras de folhas de manjericão foram retiradas diariamente, congeladas em nitrogênio líquido e armazenadas para posterior análise da atividade enzimática.

3.2.1- Preparo dos extratos etanólicos:

Os extratos de folhas de *O. basilicum* L. foram preparados em etanol 95%. Foram feitas extrações sucessivas por remaceração até o esgotamento da amostra vegetal (ANVISA, 2010). Após a extração, os extratos foram filtrados e em seguida feita a evaporação em banho de água aquecido a 37 °C, resultando nos extratos secos

dos tratamentos TA-E, TA-SE, 5 °C-E, 5 °C-SE, nos cinco dias de armazenamento, com coleta e preparo dos extratos diários. O rendimento foi calculado em função da concentração inicial, após a secagem do extrato líquido.

O rendimento foi calculado de acordo com a fórmula:

$$R_{\%} = \frac{M_{\text{ext}}}{M_{\text{folhas}}} \times 100$$

Onde:

$R_{\%}$ = Rendimento total (%)

M_{ext} = massa extrato seco (g)

M_{folhas} = massa das partes florais frescas (g)

3.2.2 - Determinação da concentração de compostos fenólicos:

O doseamento de compostos fenólicos foi adaptado de MURTHY et al. (2002). Foram pesados 2mg dos extratos secos dos tratamentos TA-SE, TA-E, 5 °C-SE e 5 °C-E que foram adicionados a 2000µL de etanol 95%, do qual foram retiradas alíquotas de 100µL, resultando em solução de 0,1mg/µL. As alíquotas dos extratos foram adicionados a 1,0mL de reagente de Folin Ciocalteu diluído (1:10) e 0,8mL de solução de carbonato de sódio a 7,5%, em tubo de ensaio. Os respectivos tratamentos foram homogeneizados em vórtex, e permaneceram à temperatura de 25 °C por 30 minutos. Após este procedimento foi medida a absorbância das amostras em espectrofotômetro a 765nm. Todos os tratamentos foram realizados com quatro repetições. A curva-padrão foi construída utilizando ácido tânico (1mg/mL) como substância de referência, nas condições descritas anteriormente. Os teores de compostos fenólicos em extratos dos tratamentos de TA-SE, TA-E, 5 °C-SE e 5 °C-E foram expressos em mg/g de ácido tânico.

3.2.3 - Determinação da concentração de flavonoides:

A concentração de flavonoides foi adaptada de JAYAPRAKASHA et al. (2001). Na determinação do teor de flavonoides, pesou-se 2mg de extratos secos dos tratamentos TA-SE, TA-E, 5 °C-SE e 5 °C-E que foram suspensos em 2000µL de etanol 95%, do qual foi retirada a alíquota de 100µL, resultando em solução de 0,1mg/µL. As alíquotas dos extratos foram adicionados a 2mL de ácido clorídrico 4% e de 2mL de solução de vanilina etanólica a 10%. Após este processo, as alíquotas foram homogeneizadas e armazenadas ao abrigo do calor e da luz a 25 °C, por 30 minutos. Em

seguida, foi feita a leitura em espectrofotômetro a 460nm. Todos os tratamentos foram realizados com quatro repetições. Curva-padrão foi feita utilizando quercetina (10mg/mL) nas mesmas condições descritas. A determinação da concentração de flavonoides em extratos dos tratamentos de TA-SE, TA-E, 5 °C-SE e 5 °C-E foram expressos µg/mL de quercetina.

3.2.4- Determinação dos carotenoides totais:

A determinação dos carotenoides totais foi realizada de acordo com a técnica de LICHTENTHALER (1987), com algumas modificações. Amostras foram retiradas da lâmina foliar, com um perfurador de disco de 5mm de diâmetro, de 5 a 6 folhas de três regiões da planta, totalizando 10 discos por tratamento. Em condições de baixa luminosidade os pigmentos foram extraídos de tecidos foliares por maceração em almofariz e pistilo, contendo 2mL de acetona 80% na presença de carbonato de cálcio. Após maceração e filtragem, o papel de filtro foi lavado com acetona e o volume foi ajustado em balão volumétrico de 25mL. A densidade ótica dos filtrados foi analisada em espectrofotômetro a 663, 645 e 470nm. Posteriormente os valores de carotenoides foram transformados para mg/dm² de carotenoides no limbo foliar.

A conversão de valores de absorvância obtidos pelo espectrofotômetro aos valores de concentração de pigmentos (mg/dm²), foi feita com as equações propostas por WELLBURN (1994):

$$\text{Clorofila a: } Ca = 12,19 * A_{665} - 3,45 * A_{649}$$

$$\text{Clorofila b: } Cb = 21,99 * A_{649} - 5,32 * A_{665}$$

$$\text{Carotenoides: } C = (1000 * A_{480} - 2,14 * Ca - 70,16 * Cb) / 221$$

3.2.5 - Determinação da atividade antioxidante:

A determinação da atividade antioxidante ocorreu a partir de análise dos extratos secos que foram obtidos por extrações sucessivas por remaceração em etanol (capítulo 1). No ensaio da atividade antioxidante foi utilizado o método de captura do radical 2,2-difenil-1-picrilhidrazil (DPPH) dos extratos dos tratamentos TA-SE, TA-E, 5 °C-SE e 5 °C-E e diluições em 500ppm, em quatro repetições, de acordo com ensaio realizado por OLIVEIRA et al. (2011). Em ambiente escuro, foram transferidas alíquotas de 0,1mL dos extratos dos tratamentos já mencionados adicionados a 1,0mL de solução metanólica de DPPH (0,1mM). A solução foi homogeneizada em vórtex e mantida em repouso à temperatura ambiente durante 30 minutos e ao abrigo da luz, posteriormente

foi realizada a leitura espectrofotométrica a 517nm, utilizando álcool metílico PA e DPPH como substância em branco. Como padrão foi utilizado 100ppm de BHA (hidroxianisol-butilado,) (SINGH et al., 2002). O cálculo do consumo do radical DPPH foi calculado pela seguinte equação:

$$\%AAT = [(AbsCONTROLE - AbsAMOSTRA) / AbsCONTROLE] \times 100$$

Onde:

AbsAMOSTRA = Absorbância da solução de DPPH contendo extratos de manjeriço.

AbsCONTROLE= Absorbância da solução de DPPH.

3.2.6 - Determinação da atividade da POD:

Na obtenção do extrato enzimático da enzima POD, 25g de folhas de manjeriço foram homogeneizados em politron com 25mL de tampão fosfato de sódio (0,1 M), pH 6,0. A composição do tampão de extração foi: tampão fosfato de sódio (0,1 M), pH 6,0, acrescido de 0,1% de bissulfito de sódio e cloreto de sódio (0,15M). Após isso, o homogeneizado foi filtrado em quatro camadas de gaze e centrifugado a 17.000g por 30 minutos, a 4 °C. Na determinação da atividade enzimática da POD, alíquotas de 100µL extrato enzimático foi adicionada ao meio de reação contendo 0,5mL de guaiacol (2%), 1,5mL de tampão fosfato (0,1M) pH 6,0 e 0,5mL de H₂O₂ (1,8%). O ensaio em branco foi constituído por todos os componentes do meio de reação, exceto o extrato enzimático, que foi substituído por água. A atividade enzimática foi determinada em espectrofotômetro, analisando a variação na absorbância em comprimento de onda de 470nm, a 25 °C, e expressa em UA/min/mg de proteína (NEVES, 2003).

O mesmo extrato utilizado na determinação da atividade enzimática foi utilizado na quantificação da proteína pelo método de BRADFORD (1976) utilizando albumina sorobovina (BSA) como padrão.

3.2.7 - Determinação da atividade da CAT:

Na obtenção do extrato da enzima CAT, 5g de folhas de manjeriço foram homogeneizadas em politron com 25mL de tampão de fosfato de potássio (0,1M) pH 7,0. A composição do tampão de extração foi: fosfato de potássio (0,1M) pH 7,0; EDTA (1mM); PMSF (1mM); polivinil pirrolidone (PVP) 1% (w/v). Após, homogeneizado foi filtrado em quatro camadas de gaze e centrifugado a 16.000g por 15 minutos a 4 °C. A atividade foi determinada utilizando extrato enzimático de CAT (10µL) junto a solução de meio de reação (990µL) contendo H₂O₂ (10mM) e tampão fosfato (50mM) pH 7,0,

por 1 minuto a 25 °C em metodologia adaptada de AEBI (1984). A reação começou pela adição de H₂O₂ ao meio de reação, e a atividade enzimática de CAT foi determinada pela taxa de redução da absorbância no espectrofotômetro a 240nm. A atividade enzimática da CAT foi expressa em µmol/min/mg proteína.

O mesmo extrato utilizado na determinação da atividade enzimática foi utilizado na quantificação da proteína pelo método de BRADFORD (1976) utilizando albumina sorobovina (BSA) como padrão.

3.2.8- Determinação da atividade da SOD:

Na obtenção do extrato enzimático da enzima SOD, foi utilizado 25mL de tampão fosfato de potássio junto (0,1M) pH 7,5, a 50g de amostra de folhas de manjeriço, triturados no politron até obtenção do homogenato. A composição do tampão de extração foi: fosfato de potássio (0,1M) pH 7,5. Após, o homogeneizado foi filtrado em quatro camadas de gaze e centrifugado a 21.000g por 20 minutos a 4 °C (FERRAEZE et al., 2013). Na determinação da atividade enzimática da SOD, uma alíquota de 100µL de extrato enzimático de SOD foram adicionados a 2900µL do meio de reação contendo metionina (16mM), EDTA (6mM), tetrazolium nitroblue (175µM), riboflavina (16µM) e tampão fosfato de potássio (50mM) pH 7,8.

A avaliação da atividade da SOD consistiu nas duas leituras em espectrofotômetro por amostra, leituras em condições de claro e leituras em escuro. Nas leituras em condições de claro as amostras (extrato enzimático e meio de reação) foram expostas a lâmpadas fluorescentes de 15W por 10 minutos a 0,3m de distância da superfície da solução. Nas leituras em condições de escuro, as amostras (extrato enzimático e meio de reação) foram mantidas no escuro. A atividade enzimática foi analisada em espectrofotômetro, observando a variação na absorbância em comprimento de onda de 560nm, a 25 °C, em condições de escuro e iluminação artificial e foram expressas em UA/min/mg de proteína (FERRAEZE et al., 2013).

O mesmo extrato utilizado na determinação da atividade enzimática foi utilizado na quantificação da proteína pelo método de BRADFORD (1976) utilizando albumina sorobovina (BSA) como padrão.

3.2.9 - Determinação da atividade da PPO:

Na obtenção do extrato enzimático da PPO, 50mL de tampão de extração foram adicionados a 5g de folhas de manjeriço, triturados no politron até obtenção de

homogenato, que foi centrifugado a 17.000g durante 30 minutos, a 4 °C. O tampão de extração foi constituído da solução de tampão fosfato de sódio (0,1M) pH 6,5 ; polivinilpirrolidona (PVP40) 1 % e Triton X 1%.

Quanto a atividade da PPO, 25µL de extrato enzimático foram adicionados ao meio de reação contendo 1,475mL de tampão fosfato (0,1M) pH 6,5, acrescido de 4-metilcatecol (30mM), completando o volume final de reação a 1,5mL. A reação em branco foi feita com todos os componentes do meio de reação, exceto o extrato enzimático, que foi substituído por água. A atividade enzimática foi analisada em espectrofotômetro, por meio da variação na absorbância em comprimento de onda de 420nm, a 25 °C e expressa em UA/min/mg de proteína (KAVRAYAN & AYDEMIR, 2001).

O mesmo extrato utilizado na determinação da atividade enzimática foi utilizado na quantificação da proteína pelo método de BRADFORD (1976) utilizando albumina sorobovina (BSA) como padrão.

3.2.10– Delineamento experimental:

O experimento foi instalado em esquema de parcelas subdivididas, tendo nas parcelas esquema fatorial 2x2 (2 temperaturas, 2 embalagens) e nas subparcelas os tempos de avaliação no Delineamento Inteiramente Casualizado com quatro repetições.

Os dados foram submetidos à análise de variância e de regressão. As médias dos valores qualitativos, as médias foram comparadas pelo teste de Tukey adotando o nível de 5% de probabilidade. Independentemente da interação de maior grau ser ou não significativa, foi feito o desdobramento devido ao fator em estudo.

Os resultados da concentração de flavonoides, antioxidantes, carotenoides e compostos fenólicos foram avaliados de acordo com o esquema de análise de variância, utilizando-se o software SAEG (2007).

A avaliação da atividade das enzimas (POD, PPO, CAT e SOD) foi realizada de acordo com análise estatística descritiva.

3.3- RESULTADOS E DISCUSSÃO:

3.3.1- Rendimento dos extratos:

Os extratos etanólicos secos de folhas de manjeriço mantiveram a coloração característica do extrato líquido verde acastanhado e odor característico como na planta fresca (amadeirado, adocicado). O rendimento dos extratos secos, calculado em função

da massa fresca inicial, foi em média $4,09 \pm 0,87\%$. PITARO et al., 2012 descreve rendimento semelhante em extratos etanólicos de manjeriço (*O. basilicum* L.) preparados a partir da planta fresca, com média de rendimento de 3,98%. A extração dos compostos secundários a partir do preparo dos extratos está diretamente relacionada à composição do produto e a polaridade dos mesmos, havendo grande diversidade em relação à qualidade do material e do solvente utilizado (TURKMEN et al., 2006).

Tabela 1- Médias do rendimento dos extratos (%) nos tratamentos TASE (temperatura ambiente sem embalagem), TAE (temperatura ambiente com embalagem), 5° C-SE (5°C sem embalagem) e 5 °C-E (5 °C com embalagem) em manjeriço (*O. basilicum* L.). Viçosa, 2015.

TRATAMENTOS	MÉDIAS (%)
TESTEMUNHA (D0)	3.56
D1(TA-SE)	4,80*
D1(TA-E)	3,75 ^{ns}
D1(5 °C-SE)	4,59*
D1(5 °C-E)	3,10*
D2(TA-SE)	4,81*
D2(TA-E)	3,89 ^{ns}
D2(5 °C-SE)	4,07*
D2(5 °C-E)	3,27 ^{ns}
D3(TA-SE)	4,26*
D3(TA-E)	3,66 ^{ns}
D3(5 °C-SE)	5,75*
D3(5 °C-E)	3,71 ^{ns}
D4(TA-SE)	4,72*
D4(TA-E)	2,00*
D4(5 °C-SE)	5,04*
D4(5 °C-E)	3,86 ^{ns}
D5(TA-SE)	4,33*
D5(TA-E)	3,27 ^{ns}
D5(5 °C-SE)	5,66*
D5(5 °C-E)	2,87*

As médias com asterisco (*) na coluna diferem da testemunhas ao nível de 5% de significância pelo teste de Dunnett.

Pelo teste de Dunnett foram comparadas as médias dos rendimentos dos extratos dos tratamentos com a testemunha (dia 0, planta fresca) a 5% de significância (Tabela 1). Nos tratamentos que diferiram da testemunha as plantas tiveram as maiores perdas de massa dos tecidos, e foram os tratamentos sem embalagens plásticas, em ambas as temperaturas.

A perda de massa fresca do manjeriço na pós-colheita, pode causar menor rendimento dos extratos e perda da qualidade em virtude da decomposição dos compostos secundários pela ação enzimática (BORGIO et al., 2010).

3.3.2- Determinação da concentração de compostos fenólicos:

Compostos fenólicos são metabólitos secundários envolvidos nas características de qualidade dos vegetais, como sabor, aparência e propriedades medicinais. Esses compostos são poderosos antioxidantes capazes de neutralizar espécies reativas de oxigênio. Pesquisas tem relacionado o metabolismo desses compostos com a tolerância aos sintomas de injúria por frio, no entanto muitos dos mecanismos bioquímicos e fisiológicos ainda não foram completamente elucidados (SIBOZA et al., 2014).

Houve interação significativa entre a concentração de compostos fenólicos durante o armazenamento de manjeriço à temperatura ambiente e a 5 °C, com e sem a presença de embalagens plásticas (Tabela 2).

A concentração de compostos fenólicos teve aumento considerável em todos os tratamentos, independente da temperatura de armazenamento e da presença de embalagens, até o terceiro dia de análise, decrescendo a partir deste momento em consequência do início do processo de senescência (Figura 1). Comportamento semelhante foi observado em abacate (VIEITES et al., 2012), em manjeriço armazenado à temperatura de 4 °C da espécie *O. citriodourum* (WONGSHEREE et al., 2009), e peras cv. 'Yali' (CHENG et al., 2015). Isso pode ser explicado pelo fato de que tecidos onde há ocorrência de estresse ou dano há aumento na atividade da enzima PAL, que é a primeira enzima envolvida na síntese dos compostos fenólicos solúveis. O escurecimento pós-colheita de vegetais é relacionado à síntese de compostos fenólicos que são oxidados a quinonas e polimerizados. A enzima chave no processo de biossíntese de compostos fenólicos é a PAL, que tem a sua atividade induzida em condições de estresse (LUO et al., 2012).

Os fenóis posteriormente são oxidados pela ação da PPO e POD produzindo quinonas, que se polimerizam formando pigmentos escuros, havendo diminuição da concentração ao longo do tempo (MENDES et al., 2011). O escurecimento dos vegetais expostos à injúria por frio é decorrente da ação de enzimas PODs e PPOs. A enzima POD catalisa o escurecimento por meio da geração de peróxido de hidrogênio, utilizando compostos fenólicos livres ou quinonas como substratos (WONGSHEREE et al., 2009). A PPO pode aumentar o escurecimento mediado pela enzima POD, ou pode atuar de maneira independente. A PPO utiliza compostos fenólicos como substrato, e a sua atividade se mostra correlacionada com os sintomas de injúria por frio em espécies vegetais folhosas (WONGSHEREE et al., 2009).

Tabela 2 – Médias da concentração de compostos fenólicos (mg/g) em manjeriço variedade ‘Roxinho’ durante o armazenamento no período de 1 a 5 dias. (SE: sem utilização de embalagem; E: com utilização de embalagem). (Coeficiente de variação= 50,13%) Viçosa, Minas Gerais, 2015.

	TEMP. AMBIENTE	TEMP. 5 °C
SE	25,05 ab	12,40 b
E	33,38 a	24,40 ab

Médias seguidas de pelo menos uma letra em comum não diferem ao nível de 5% de probabilidade pelo teste de Tukey.

A condição de armazenamento em que houve maior concentração média de compostos fenólicos ao longo de cinco dias de análise pós-colheita ocorreu à temperatura ambiente com utilização de embalagens, com média de 33,38mg/g (Tabela 2).

As condições de armazenamento à temperatura ambiente sem utilização de embalagens (25,05mg/g) e a 5 °C com utilização de embalagens (24,40mg/g) não diferiram estatisticamente a 5% pelo teste de Tukey ao longo dos cinco dias de análise pós-colheita (Tabela 2).

Observou-se maior concentração de compostos fenólicos no armazenamento à temperatura ambiente (Figura 2). Constatação semelhante foi realizada por ANTUNES (2006) com amora-preta e VIEITES et al. (2012) com abacate.

A condição de armazenamento em que houve menor concentração média de compostos fenólicos ao longo de cinco dias de análise pós-colheita ocorreu à

temperatura de 5° C sem utilização de embalagens, com média de 12,40mg/g (Tabela 2). A concentração de compostos fenólicos está intimamente relacionada à qualidade pós-colheita dos vegetais (TSANTILI et al., 2010; LUO et al., 2012; WONGSHEREE et al., 2009), assim o armazenamento a 5 °C sem a utilização de embalagens, promoveu a degradação dos compostos fenólicos devido às modificações fisiológicas causadas pela injúria por frio. A diminuição da concentração de fenólicos é atribuída à ação das enzimas antioxidativas, diminuindo o potencial antioxidante do manjericão, bem como a qualidade deste como alimento funcional (Figura 1).

Os compostos fenólicos possuem características antioxidantes, no entanto, em condições de rompimento de membranas e extravasamento de conteúdos celulares atuam como substratos de enzimas antioxidantes, que como consequência, promovem o escurecimento dos tecidos, e, portanto o aparecimento das manchas escurecidas características da injúria por frio. Essa dupla característica dos compostos fenólicos compromete o entendimento das respostas fisiológicas dos vegetais nas situações de estresse (TSANTILI et al., 2010).

Todas as condições de armazenamento pós-colheita tiveram declínio na concentração de compostos fenólicos ao longo dos cinco dias de armazenamento. Em geral, a regulação oxidativa é um processo de equilíbrio dinâmico entre os sistemas que produzem e neutralizam as EROs, a resposta inicial dos tecidos ao estresse é a produção de EROs, e esta por sua vez desencadeia a indução fisiológica de sistemas antioxidantes de forma a atenuar os danos, no entanto, em casos drásticos de estresse, o tecido vegetal já não pode mais suportar o dano causando a senescência (TSANTILI et al., 2010).

Além disso, confirmando os resultados expostos, houve correlação positiva entre a concentração de compostos fenólicos, os sintomas visuais de escurecimento das folhas e o extravasamento de eletrólitos, confirmando então a injúria por frio e o declínio pós-colheita de manjericão durante o armazenamento refrigerado por cinco dias. Tipicamente os compostos fenólicos são produzidos pelas plantas por razões diferenciadas como defesa contra microrganismos, insetos ou outros herbívoros, disponibilidade de nutrientes e exposição à radiação UV. Estes compostos são conhecidos pelas propriedades redox, o que permite agirem como agentes redutores, doadores de hidrogênio e supressores de singletos de oxigênio. Além disso, têm potencial de atuar como agentes quelantes de metais (LANDI et al., 2013).

CONCENTRAÇÃO DE COMPOSTOS FENÓLICOS

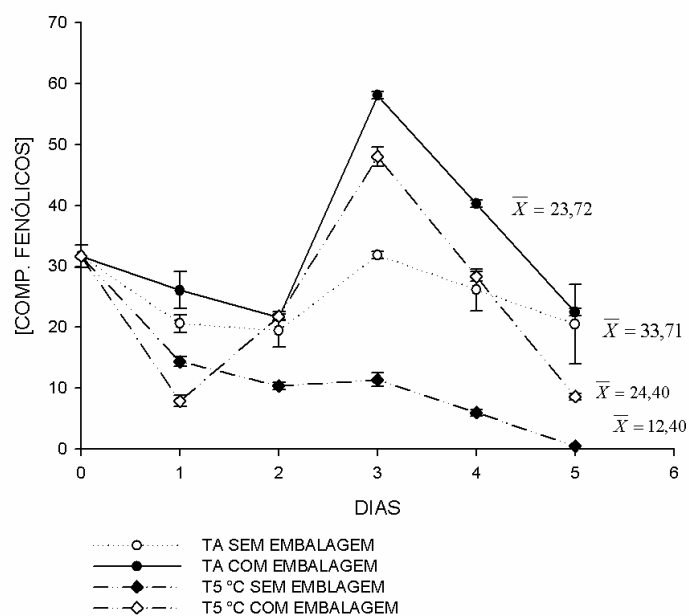


Figura 1- Concentração de compostos fenólicos (mg/g) em ramos de manjeriço variedade 'Roxinho' nas temperaturas ambiente (TA) e a 5 °C (T5 °C), com e sem a utilização de embalagens plásticas em função do tempo de armazenamento (0 a 5 dias). As barras verticais correspondem ao erro. Viçosa, Minas Gerais, 2015.

Tabela 3 – Médias da concentração de compostos fenólicos (mg/g) nos tratamentos TA-SE (temperatura ambiente sem embalagem), TA-E (temperatura ambiente com embalagem), 5 °C-SE (5 °C sem embalagem) e 5 °C-E (5 °C com embalagem) em manjeriço (*O. basilicum* L.). Viçosa, Minas Gerais, 2015.

TRATAMENTOS	MÉDIAS (mg/g)
TESTEMUNHA (D0)	33.25
D1(TA-SE)	20.62*
D1(TA-E)	26.09 ^{ns}
D1(5 °C-SE)	14.40*
D1(5 °C-E)	7.90*
D2(TA-SE)	19.49*
D2(TA-E)	21.67*
D2(5 °C-SE)	10.42*
D2(5 °C-E)	21.79*
D3(TA-SE)	31.83 ^{ns}
D3(TA-E)	58.06*
D3(5 °C-SE)	11.39*
D3(5 °C-E)	48.04*
D4(TA-SE)	26.17 ^{ns}
D4(TA-E)	40.27 ^{ns}
D4(5 °C-SE)	5.97*
D4(5 °C-E)	28.33 ^{ns}
D5(TA-SE)	20.50*
D5(TA-E)	22.48*
D5(5 °C-SE)	0.54*
D5(5 °C-E)	8.62*

As médias com asterisco (*) na coluna diferem da testemunhas ao nível de 5% de significância pelo teste de Dunnett.

Pelo teste de Dunnett foram comparadas as médias dos tratamentos com a testemunha (dia 0, planta fresca) a 5% de significância (Tabela 3). Os tratamentos que diferiram da testemunha correspondem aos picos de concentração de compostos fenólicos (dia 3 e 4 de análise).

3.3.3- Determinação da concentração de flavonoides:

A atividade antioxidante dos flavonoides resulta de uma combinação de suas propriedades quelantes de ferro e eliminadoras de radicais livres, além da inibição de oxidases, evitando assim a formação de espécies reativas de oxigênio e hidroxiperoxidos orgânicos (JIMÉNEZ et al., 2009).

Houve interação significativa entre a concentração de flavonoides à temperatura ambiente e a 5 °C, com e sem uso de embalagens plásticas durante armazenamento a cinco dias (Tabela 4).

No primeiro dia de análise observando o fator embalagem, na temperatura ambiente houve diferença significativa entre a ausência e presença de embalagem, com maior concentração de flavonoides nos tratamentos sem embalagem (4,28µg/g) (Tabela 4). Analisando o fator temperatura, ocorreu diferença significativa entre as temperaturas de armazenamento nas amostras sem embalagem, onde a concentração de flavonoides foi superior à temperatura ambiente (4,28µg/g) foi superior a 5°C (1,52µg/g). Nos tratamentos com embalagem, não houve diferença significativa entre as temperaturas (Tabela 3).

No segundo dia de análise, não ocorreu diferença significativa entre as interações dos fatores temperatura e embalagem (Tabela 4).

Tabela 4 – Médias da concentração de flavonoides ($\mu\text{g/g}$) e interação entre as variáveis temperatura e embalagem em manjericão variedade ‘Roxinho’ durante o armazenamento no período de 1 a 5 dias. (SE: sem utilização de embalagem; E: com utilização de embalagem). (Coeficiente de variação= 33,09%). Viçosa, Minas Gerais, 2015.

Tempo de armazenamento (Dias)		Temperatura de armazenamento	
		Temp. ambiente	5 °C
1	SE	4,28Aa	1,52Bb
	E	1,95Ba	3,51Aa
2	SE	3,09Aa	1,52Aa
	E	1,52Aa	2,50Aa
3	SE	3,32Aa	2,88Aa
	E	1,61Bb	3,92Aa
4	SE	2,92Aa	3,94Aa
	E	2,53Aa	2,54Aa
5	SE	2,51Ab	5,01Aa
	E	3,45Aa	1,17Bb

Letras maiúsculas em uma mesma coluna comparam as médias de tratamento para cada dia. Letras minúsculas em uma mesma linha comparam as médias de cada tratamento para cada dia. Médias seguidas de pelo menos uma letra em comum não diferem ao nível de 5% de probabilidade pelo teste de Tukey.

Na análise do terceiro dia, no fator embalagem a diferença foi significativa na temperatura ambiente entre o uso de embalagem ($1,61\mu\text{g/g}$) e as amostras armazenadas sem embalagem ($3,32\mu\text{g/g}$). Na temperatura de 5 °C não ocorreu diferença significativa entre ausência e presença de embalagens. Não houve diferença significativa nas duas temperaturas de armazenamento na ausência de embalagem. Nas plantas embaladas houve maior concentração de flavonoides nas temperaturas de 5° C ($3,92\mu\text{g/g}$) comparando com a temperatura ambiente ($1,61\mu\text{g/g}$) (Tabela 4).

No quarto dia de análise houve comportamento semelhante ao segundo dia de análise, e não ocorreu diferença significativa entre as interações dos fatores temperatura e embalagem (Tabela 4).

No quinto dia de análise, no fator embalagem, não houve diferença significativa no armazenamento em temperatura ambiente entre presença ou ausência de embalagem. No armazenamento à temperatura de 5 °C, houve diferença significativa entre os tratamentos sem embalagem (5,01µg/g) comparados aos tratamentos com embalagem (1,17µg/g). No fator temperatura, ocorreu diferença significativa entre os tratamentos sem embalagem, com maior concentração de flavonoides no armazenamento à temperatura de 5° C (2,51µg/g) quando comparados à temperatura ambiente (2,51µg/g). Nos tratamentos com embalagem, a maior concentração de flavonoides foi observada na temperatura ambiente (3,45µg/g) quando comparadas ao armazenamento a 5 °C (1,17µg/g) (Tabela 3).

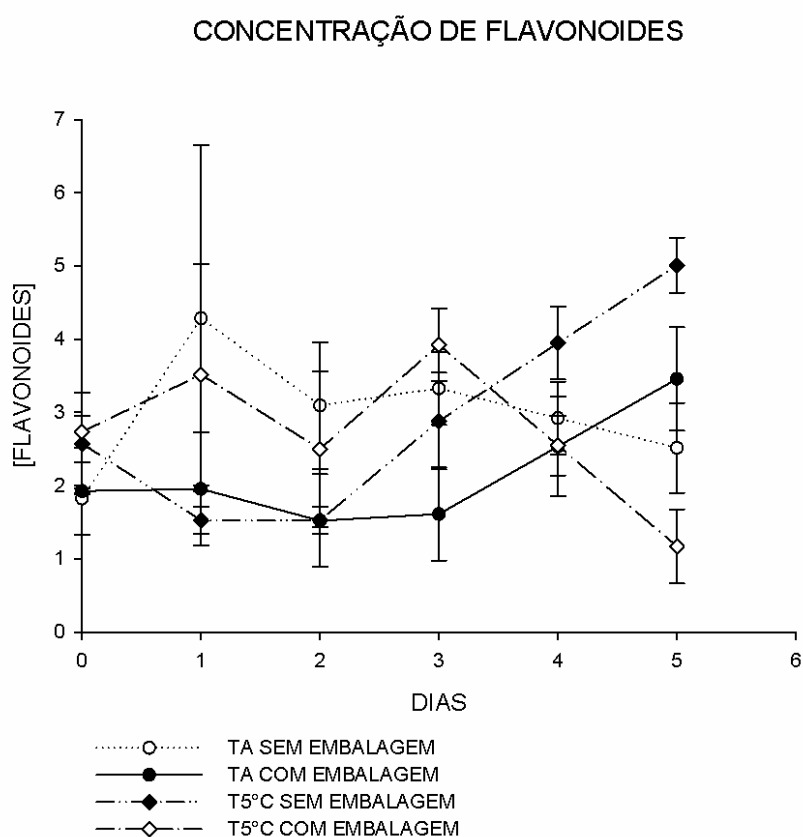


Figura 2- Concentração de flavonoides (µg/g) em ramos de manjericão variedade 'Roxinho' nas temperaturas ambiente (TA) e a 5 °C (T5 °C), com e sem a utilização de

embalagens plásticas em função do tempo de armazenamento (0 a 5 dias). Viçosa, Minas Gerais, 2015.

Houve aumento da concentração de flavonoides ao longo do tempo de armazenamento nos tratamentos a 5 °C, sem embalagens plásticas. O que pode ser relacionado às propriedades antioxidativas atuando no estresse por frio e senescência dos tecidos vegetais (ROCHA, 2010). O aumento da concentração de flavonoides altera o padrão de peroxidação cinética pela modificação da constituição de lipídeos da membrana, diminuindo a fluidez (KAUPPANAPANDIAN et al., 2011).

No manjericão armazenado à temperatura ambiente sem embalagem, houve decréscimo da concentração de flavonoides, resultado semelhante foi descrito em chicória proveniente de cultivo orgânico, armazenada a 25 °C (ROCHA, 2010).

Os flavonoides podem ser conjugados junto às membranas celulares, que no caso do estresse por frio é o principal alvo das EROs. Os flavonoides de perfil apolar são integrados as membranas e exercem função de moduladores de fluidez, restringindo ou não a fluidez, gerando impedimento físico à difusão das EROs, de modo a decrescer a cinética das reações responsáveis pelo estresse oxidativo (BARREIROS et al., 2006).

O sistema de flavonoides localizado no cloroplasto em condições de excesso de excitação protege as células vegetais do estresse foto-oxidativo pela limitação da saída de O₂, envolvido na morte celular programada. Quercetina, que é flavonoide cloroplastídico, provavelmente tem ação antioxidante na oxidação de componentes do fotossistema II (DARWISH et al, 2015).

Pelo teste de Dunnett foram comparadas as médias dos tratamentos com a testemunha (dia 0, planta fresca) a 5% de significância (Tabela 5). Não houve diferença estatística significativa entre os teores de flavonoides ao longo dos dias de armazenamento comparando-se a planta fresca (Figura 2). Resultados semelhantes foram encontrados em berinjela proveniente de cultivo orgânico, não havendo diferença significativa entre armazenamento a 25 °C e refrigeração a 4 °C (ROCHA, 2010).

Tabela 5- Médias da concentração de flavonoides ($\mu\text{g/g}$) nos tratamentos TA-SE (temperatura ambiente sem embalagem), TA-E (temperatura ambiente com embalagem), 5°C-SE (5 °C sem embalagem) e 5 °C-E (5 °C com embalagem) em manjericão (*O. basilicum* L.). Viçosa, Minas Gerais, 2015.

TRATAMENTOS	MÉDIAS ($\mu\text{g/mL}$)
TESTEMUNHA (D0)	2,26
D1(TA-SE)	4.28 ^{ns}
D1(TA-E)	1.95 ^{ns}
D1(5 °C-SE)	1.52 ^{ns}
D1(5 °C-E)	3.51 ^{ns}
D2(TA-SE)	3.09 ^{ns}
D2(TA-E)	1.52 ^{ns}
D2(5 °C-SE)	1.52 ^{ns}
D2(5 °C-E)	2.50 ^{ns}
D3(TA-SE)	3.32 ^{ns}
D3(TA-E)	1.6 ^{ns}
D3(5 °C-SE)	2.88 ^{ns}
D3(5 °C-E)	3.92 ^{ns}
D4(TA-SE)	2.92 ^{ns}
D4(TA-E)	2.53 ^{ns}
D4(5 °C-SE)	3.94 ^{ns}
D4(5 °C-E)	2.54 ^{ns}
D5(TA-SE)	2.51 ^{ns}
D5(TA-E)	3.45 ^{ns}
D5(5 °C-SE)	5.01 ^{ns}
D5(5 °C-E)	1.17 ^{ns}

As médias com asterisco (*) na coluna diferem da testemunhas ao nível de 5% de significância pelo teste de Dunnett.

3.3.4 – Determinação da concentração de carotenoides:

Houve interação significativa entre a concentração de carotenoides durante o armazenamento de manjeriço à temperatura ambiente e a 5 °C, com e sem a presença de embalagens plásticas (Tabela 6).

Os carotenoides constituem agentes redutores, com importante ação antioxidante, estes atuam como inativadores de singletos de oxigênio, ou como sequestradores de radicais peroxila, reduzindo a oxidação do DNA e lipídeos. A desativação de singletos de oxigênio pode se dar de duas formas, pela transferência física da energia de excitação do $^1\text{O}_2$ para o carotenoide, e pela reação química dos carotenoides com o $^1\text{O}_2$ (BARREIROS et al., 2006).

O estresse por frio é um dos maiores fatores limitantes para a ampla distribuição geográfica e produtividade de plantas tropicais sensíveis, incluindo importantes culturas, tais como tomate, pepino e pimentas. Essa condição de estresse limita a atividade das enzimas do ciclo de Calvin-Benson, e conseqüentemente reduzem a utilização da energia da luz absorvida para a assimilação de CO_2 (ZHOU et al., 2013). Quando as plantas absorvem mais energia luminosa do que elas conseguem utilizar através da via fotossintética de transporte de elétrons, o excesso de energia, que não é imediatamente neutralizada, pode reduzir a eficiência da fotossíntese resultando em fotoinibição e dano fotooxidativo nos centros de reação fotossintéticos. Os carotenoides, dentre outros pigmentos celulares, são componentes estruturais de absorção de luz, contribuindo assim, para a dissipação do excesso de energia absorvido e provendo contra os danos fotooxidativos (ZHOU et al., 2013).

Tabela 6 – Médias da concentração de carotenoides (mg/dm^2 de carotenoides no limbo foliar) e interação entre as variáveis temperatura e embalagem em manjeriço variedade “Roxinho” durante o armazenamento no período de 1 a 5 dias. (SE: sem utilização de embalagem; E: com utilização de embalagem). (Coeficiente de variação= 37,28%). Viçosa, Minas Gerais, 2015.

	TEMP. AMBIENTE	TEMP. 5 °C
SE	0,20 a	0,18 a
E	0,26 a	0,25 a

Médias seguidas de pelo menos uma letra em comum não diferem ao nível de 5% de probabilidade pelo teste de Tukey.

Não houve diferença significativa entre as médias de concentração de carotenoides ao longo de cinco dias de análise pós-colheita entre os diferentes tipos de armazenamento pelo teste de Tukey a 5% de significância (Tabela 6). No entanto observa-se maior concentração de carotenoides em manjerição em condições de armazenamento na ausência de embalagens para ambas as temperaturas, comportamento semelhante é descrito em frutos de *Physalis* (SEVERO et al., 2010). O menor teor de carotenoides em vegetais armazenados com refrigeração, com uso de embalagens, pode ser relacionado com redução do metabolismo devido à baixa temperatura e ao acúmulo de CO₂ nas embalagens, que podem atuar na redução da biossíntese de carotenoides (SEVERO et al., 2010).

A concentração de carotenoides nas condições de uso de embalagens durante o período de armazenamento foram superiores na temperatura ambiente. SEVERO et al. (2010) observando menor teor de carotenoides em *Physalis* armazenadas com utilização de embalagens em condições de refrigeração quando comparadas aquelas à temperatura ambiente.

A característica estrutural comum dos carotenoides é a cadeia polieno, um longo sistema de ligações duplas conjugadas, que influenciam as suas propriedades químicas, físicas e bioquímicas. Esta cadeia pode apresentar grupos terminais cíclicos, que apresentam substituintes contendo oxigênio. O sistema conjugado e rico em elétrons do polieno é responsável pela atividade antioxidante dos carotenoides, tanto na absorção de singletos de oxigênio, quanto na neutralização de radicais livres (SILVA et al., 2010).

CONCENTRAÇÃO DE CAROTENOIDES -
TEMP. AMBIENTE

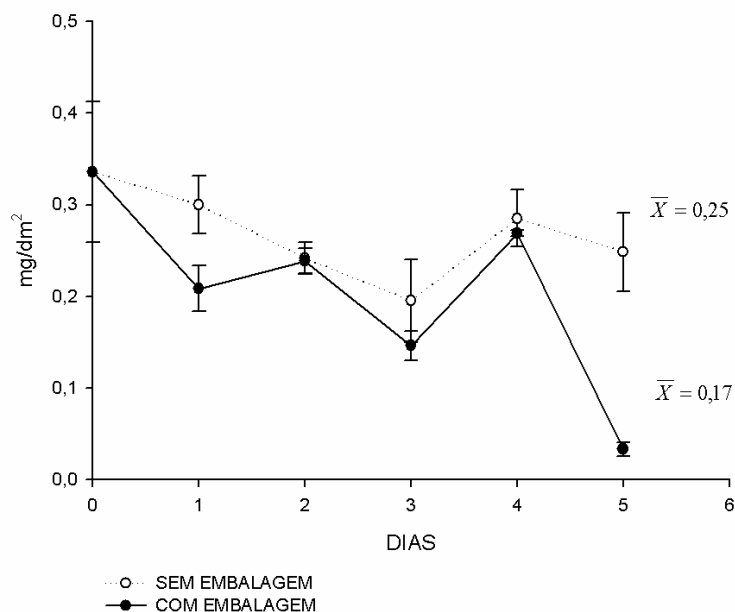


Figura 3- Concentração de carotenoides (mg/dm^2 de carotenoides no limbo foliar) em ramos de manjeriço variedade 'Roxinho' na temperatura ambiente, com e sem a utilização de embalagens plásticas em função do tempo de armazenamento (0 a 5 dias). Viçosa, Minas Gerais, 2015.

As curvas das equações das retas de carotenoides demonstram pouca variação ao longo do tempo de armazenamento para os tratamentos com uso de embalagens a $5\text{ }^\circ\text{C}$ e sem uso de embalagens à temperatura ambiente (Figuras 3 e 4). Comportamento semelhante na concentração de carotenoides foi descrito por (LANDI et al., 2013), que testou estresse por boro (20 mg.L^{-1} , adicionado ácido bórico a solução nutritiva).

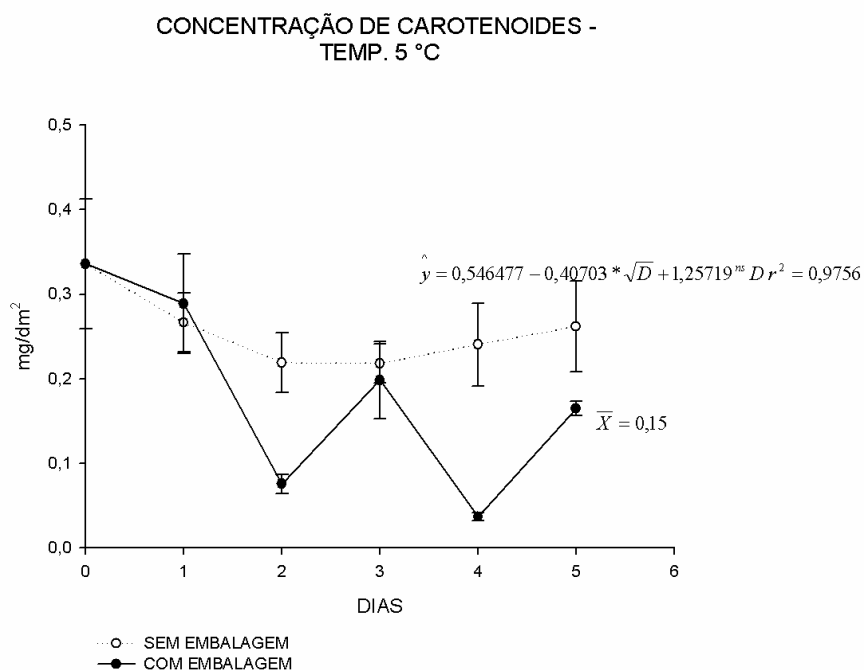


Figura 4- Concentração de carotenoides (mg/dm^2 de carotenoides no limbo foliar) em ramos de manjeriço variedade ‘Roxinho’ na temperaturas a 5 °C, com e sem a utilização de embalagens plásticas em função do tempo de armazenamento (0 a 5 dias). Viçosa, Minas Gerais, 2015.

Singletos de oxigênio produzidos nos cloroplastos podem ser detoxificados pelos carotenoides (VAN DOORN & KETSA, 2014). Os carotenoides atuam como pigmentos fotoprotetores na fotossíntese e como estabilizadores de membranas. Suas características estruturais (cadeia poli-eno com grupos terminais cíclicos) são responsáveis por sua atividade antioxidante, tanto na absorção de singletos de oxigênio, quanto na interrupção das reações em cadeia onde estes estão envolvidos (SILVA et al., 2010).

A presença de duplas ligações na estrutura dos carotenoides facilita a oxidação, levando a conseqüente perda da coloração nos alimentos. Além da proteção celular e in vitro contra singletos de oxigênio, os carotenoides inibem a peroxidação de lipídeos em baixas pressões de oxigênio (SILVA et al., 2010).

Tabela 7- Médias da concentração de carotenoides (mg/dm^2 de carotenoides no limbo foliar) nos tratamentos TA-SE (temperatura ambiente sem embalagem), TA-E (temperatura ambiente com embalagem), 5 °C-SE (5 °C sem embalagem) e 5 °C-E (5 °C com embalagem) em manjeriço (*O. basilicum* L.). Viçosa, Minas Gerais, 2015.

TRATAMENTOS	MÉDIAS (mg/dm^2)
TESTEMUNHA (D0)	0,33
D1(TA-SE)	0,30 ^{ns}
D1(TA-E)	0,20 ^{ns}
D1(5 °C-SE)	0,26 ^{ns}
D1(5 °C-E)	0,28 ^{ns}
D2(TA-SE)	0,24 ^{ns}
D2(TA-E)	0,23 ^{ns}
D2(5 °C-SE)	0,21 ^{ns}
D2(5 °C-E)	0,07*
D3(TA-SE)	0,19 ^{ns}
D3(TA-E)	0,14*
D3(5 °C-SE)	0,21 ^{ns}
D3(5 °C-E)	0,19 ^{ns}
D4(TA-SE)	0,28 ^{ns}
D4(TA-E)	0,26 ^{ns}
D4(5 °C-SE)	0,24 ^{ns}
D4(5 °C-E)	0,03*
D5(TA-SE)	0,24 ^{ns}
D5(TA-E)	0,03*
D5(5 °C-SE)	0,26 ^{ns}
D5(5 °C-E)	0,16 ^{ns}

As médias com asterisco (*) na coluna diferem da testemunhas ao nível de 5% de significância pelo teste de Dunnett.

3.3.5- Determinação da concentração de antioxidantes:

Houve interação significativa entre a concentração de antioxidantes durante o armazenamento de manjeriço à temperatura ambiente e a 5 °C, com e sem a utilização de embalagens plásticas (Tabela 8).

As substâncias antioxidantes podem ser naturais ou artificiais. O primeiro grupo encontra-se principalmente em plantas na forma de compostos fenólicos (flavonoides, ácidos, álcoois, estilbenos, tocoferóis, tocotrienóis), ácido ascórbico e carotenoides. Para o grupo dos antioxidantes artificiais podem ser citados butil-hidroxi-tolueno (BHT), butil-hidroxi-anisol (BHA) e o ácido cítrico (OLIVEIRA, 2011; MILANI et al., 2012). A atividade antioxidante está relacionada principalmente aos teores de flavonoides, compostos fenólicos e taninos, e estão envolvidos na prevenção e na proteção das células vegetais contra EROs em situações de estresse (MURTHY et al., 2002; MILANI et al., 2012).

O DPPH (2,2-difenil-1-picrilhidrazil) é uma radical estável, quando reage com substâncias com atividade antioxidante é convertido em 2,2-difenil-1-picril hidrazina, descolorando-se, diminuindo o valor da absorbância lida no espectrofotômetro. Uma pequena quantidade de extrato capaz de diminuir em 50% a absorbância da solução de DPPH, nas condições de teste, anteriormente estabelecidas, estará reduzindo pela metade a capacidade de oxidação do radical (VIEIRA et al., 2010).

Os extratos que apresentaram maior capacidade antioxidante, de forma a reduzir a atividade do radical DPPH foram aqueles armazenados à temperatura ambiente com a utilização de embalagens plásticas protetoras (Tabela 8). Resultados semelhantes são descritos por ROTILI et al., 2013 em análise da conservação pós-colheita de maracujá amarelo (*Passiflora edulis* f. *flavicarpa* Deg.) armazenado à temperatura ambiente com a utilização de embalagens plásticas.

Na análise do primeiro dia, no armazenamento na temperatura ambiente ocorreu diferença significativa entre a presença e ausência de embalagens, com maior atividade antioxidante nas amostras armazenadas sem embalagem (75,25%), contra (63,90%) nas amostras com embalagem (Tabela 8). Na temperatura 5 °C não houve diferença significativa entre a presença e ausência de embalagens. Na temperatura de armazenamento, não ocorreu diferença significativa entre as folhas mantidas sem embalagem à temperatura ambiente e a 5°C. Nas amostras onde se utilizou embalagem, a atividade antioxidante foi superior no armazenamento a 5 °C (72,83%), comparado à temperatura ambiente (63,90%) (Tabela 8).

No segundo dia de análise, no armazenamento à temperatura ambiente, não houve diferença significativa entre a atividade antioxidante nos tratamentos com e sem utilização de embalagens plásticas. Na temperatura de 5 °C a atividade antioxidante foi superior nos tratamentos com embalagem (68,62%), comparados aqueles sem

embalagem (53,31%). Analisando o fator temperatura, no armazenamento sem embalagem a atividade antioxidante foi superior à temperatura ambiente. Já nas amostras armazenadas com embalagem, não ocorreu diferença significativa entre as diferentes temperaturas (Tabela 8).

No terceiro dia, no armazenamento à temperatura ambiente a atividade antioxidante foi superior nas amostras sem embalagem (69,51%) do que naquelas com embalagem (61,60%). Na temperatura de 5 °C não houve diferença significativa entre o armazenamento com e sem embalagens (Tabela 8). Analisando o fator temperatura, nas amostras armazenadas sem embalagem a atividade antioxidante foi superior naquelas à temperatura ambiente (69,51%), comparadas a 5 °C (60,45%). Nas amostras com embalagem, a atividade antioxidante foi superior na temperatura ambiente (61,60%) do que a 5 °C (56,63%) (Tabela 8).

Tabela 8 – Médias da atividade antioxidante (%) após 30' e interação entre as variáveis temperatura e embalagem em manjeriço variedade 'Roxinho' durante o armazenamento no período de 1 a 5 dias. (SE: sem utilização de embalagem; E: com utilização de embalagem). (Coeficiente de variação= 5,32%). Viçosa, Minas Gerais, 2015.

Tempo de armazenamento (Dias)		Temperatura de armazenamento	
		Temp. ambiente	5 °C
1	SE	75,25Aa	70,91Aa
	E	63,90Bb	72,83Aa
2	SE	71,04Aa	53,31Bb
	E	71,68Aa	68,62Aa
3	SE	69,51Aa	60,45Ab
	E	61,60Ba	56,63Ab
4	SE	54,59Ab	62,88Aa
	E	49,48Bb	64,15Aa
5	SE	62,62Ba	42,98Bb
	E	73,72Aa	66,07Ab

Letras maiúsculas em uma mesma coluna comparam as médias de tratamento para cada dia. Letras minúsculas em uma mesma linha comparam as médias de cada tratamento para cada dia. Médias seguidas de pelo menos uma letra em comum não diferem ao nível de 5% de probabilidade pelo teste de Tukey.

No quarto dia de análise, no fator embalagem, na temperatura ambiente a atividade antioxidante foi superior nas amostras armazenadas sem embalagem (54,59%) do que com embalagem (49,48%). Na temperatura a 5 °C não houve diferença significativa entre a presença ou ausência de embalagens (Tabela 8). No fator temperatura, nas amostras sem embalagem a atividade antioxidante foi superior no armazenamento a 5 °C (62,88%) do que a temperatura ambiente (54,59%). No armazenamento com embalagem, a atividade antioxidante foi superior na temperatura a 5 °C (64,15%) do que à temperatura ambiente (49,48%) (Tabela 8).

No quinto dia de análise, no fator embalagem, a atividade antioxidante na temperatura ambiente foi superior nas amostras armazenadas com embalagem (73,72%), comparadas as sem embalagem (62,62%). Na temperatura a 5 °C a atividade antioxidante foi superior nas amostras com embalagem (66,97%) do que nas amostras sem embalagem (42,98%) (Tabela 8). No fator temperatura, nos tratamentos sem embalagem, a atividade antioxidante foi superior à temperatura ambiente (62,62%) do que a 5 °C (42,48%). Nas amostras com embalagem, a atividade antioxidante maior à temperatura ambiente (73,72%) do que a 5 °C (66,07%) (Tabela 8).

Nas amostras de manjeriço a atividade antioxidante foi superior no armazenamento em temperatura ambiente (Figura 5). Comportamento semelhante é descrito em frutos de abacate cv. 'Fuerte' (VIEITES et al., 2012) e frutos de *Physalis* (SEVERO et al., 2010) onde há maior atividade antioxidante dos frutos armazenados à temperatura ambiente, quando comparados aqueles armazenados com refrigeração. Segundo VIEITES et al. (2012), esta maior atividade antioxidante pode estar associado à perda de massa. Além disso, o dano por frio é associado à diminuição da atividade antioxidante, com consequente aparecimento de sintomas físicos e indução à senescência dos tecidos vegetais (WONGSHEREE et al., 2009).

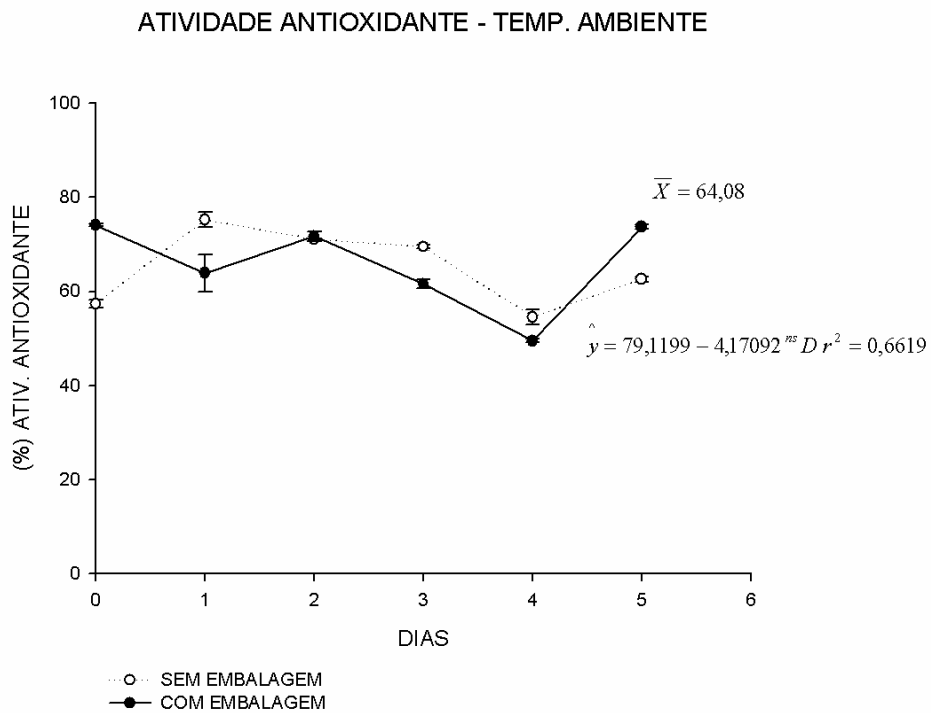


Figura 5 - Atividade antioxidante (%) à temperatura ambiente em ramos de manjeriço variedade 'Roxinho' nas temperaturas ambiente (TA) e a 5 °C (T5 °C), com e sem a utilização de embalagens plásticas em função do tempo de armazenamento (0 a 5 dias). As barras verticais correspondem ao erro. Viçosa, Minas Gerais, 2015.

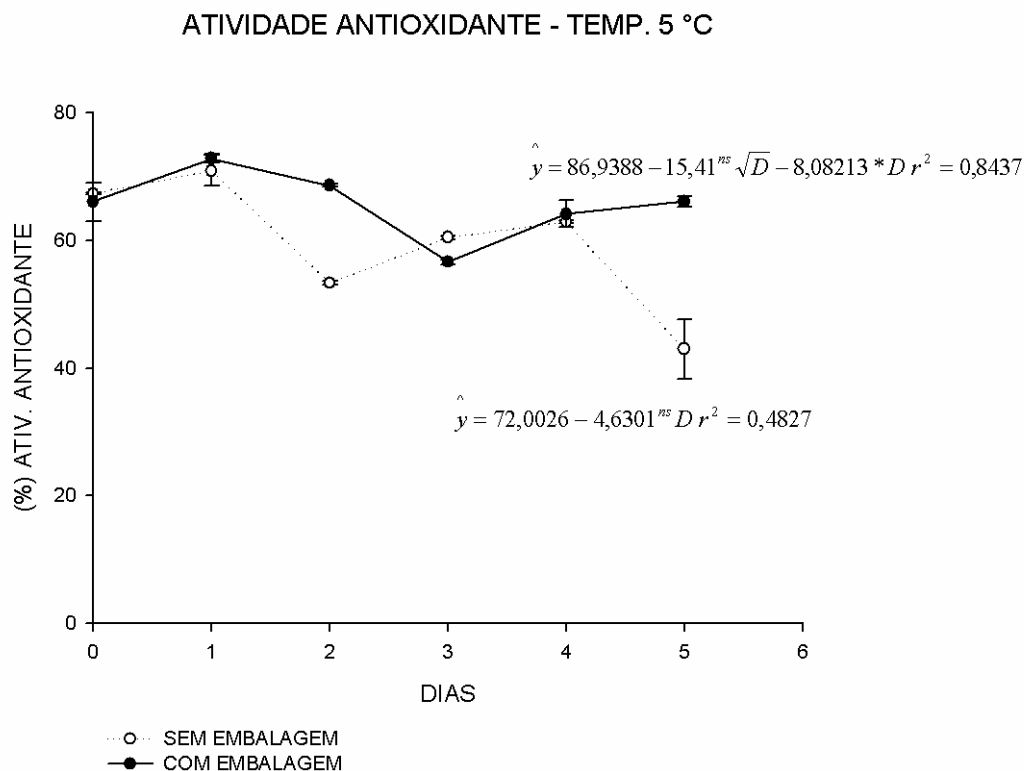


Figura 6- Atividade antioxidante (%) à temperatura 5 °C em ramos de manjericão variedade ‘Roxinho’ nas temperaturas ambiente (TA) e a 5 °C (T5 °C), com e sem a utilização de embalagens plásticas em função do tempo de armazenamento (0 a 5 dias). As barras verticais correspondem ao erro. Viçosa, Minas Gerais, 2015.

É evidente nos tratamentos sem a utilização de embalagens, em ambas as temperaturas de armazenamento, a diminuição da atividade antioxidante ao longo do tempo de armazenamento (Figuras 5 e 6). Comportamento semelhante é descrito em frutos de *Physalis* (SEVERO et al., 2010), frutos de abacate cv. ‘Hass’ (DAIUTO et al., 2012) e manjericão (*O. basilicum*) cv. ‘Green’ (BEKHRADI et al., 2015).

Tabela 9- Médias da atividade antioxidante (%) nos tratamentos TA-SE (temperatura ambiente sem embalagem), TA-E (temperatura ambiente com embalagem), 5 °C-SE (5 °C sem embalagem) e 5 °C-E (5 °C com embalagem) em manjeriço (*O. basilicum* L.). Viçosa, Minas Gerais, 2015.

TRATAMENTOS	MÉDIAS (%)
TESTEMUNHA (D0)	66,23
D1(TA-SE)	75,25*
D1(TA-E)	63,90 ^{ns}
D1(5 °C-SE)	70,91 ^{ns}
D1(5 °C-E)	72,83 ^{ns}
D2(TA-SE)	71,04 ^{ns}
D2(TA-E)	71,68 ^{ns}
D2(5 °C-SE)	53,31*
D2(5 °C-E)	68,62 ^{ns}
D3(TA-SE)	69,51 ^{ns}
D3(TA-E)	61,60 ^{ns}
D3(5 °C-SE)	60,45 ^{ns}
D3(5 °C-E)	56,63*
D4(TA-SE)	54,59*
D4(TA-E)	49,48*
D4(5 °C-SE)	62,88 ^{ns}
D4(5 °C-E)	64,15 ^{ns}
D5(TA-SE)	62,62 ^{ns}
D5(TA-E)	73,72*
D5(5 °C-SE)	42,98*
D5(5 °C-E)	66,07 ^{ns}

As médias com asterisco (*) na coluna diferem da testemunha ao nível de 5% de significância pelo teste de Dunnett.

Pelo teste de Dunnett foram comparadas as médias dos tratamentos com a testemunha (dia 0, planta fresca) a 5% de significância (Tabela 9), foi evidenciada a menor atividade antioxidante nos tratamento com uso de baixas temperaturas na pós-colheita a partir do segundo dia de armazenamento, comprovando então efeitos da injúria por frio em manjeriço.

3.3.6- Determinação da atividade da POD:

De forma geral, os maiores valores na atividade enzimática da POD foram encontrados no armazenamento à temperatura ambiente combinada ao uso de embalagens plásticas (Figura 7). Resultado semelhante foi encontrado em manjeriço cv. 'Genovese' (VITOR, 2014). As PODs são enzimas que atuam contra o estresse oxidativo, e há aumento da atividade em condições de estresse abiótico, com exposição a baixas temperaturas, seca, hipóxia, NaCl, íons cádmio e ozônio. PODs estão entre as principais enzimas antioxidativas das plantas (VAN DOORN & KETSA, 2014). A menor atividade de POD durante o armazenamento refrigerado pode ser atribuído à baixa atividade de enzimas antioxidantes em plantas em estresse por baixas temperaturas (WONGSHEREE et al., 2009).

No armazenamento à temperatura ambiente, a atividade da POD foi maior nas plantas embaladas (Figura 7). O nível de expressão das PODs pode ser alterado como resposta a diferentes estresses. Maior atividade da POD em plantas em condições de estresse foi observado no armazenamento a 4 °C em manjeriço cv. 'Genovese' (VITOR, 2014).

No armazenamento à temperatura ambiente com embalagem observou dois picos de atividade enzimática, o primeiro pico ocorreu no 1º dia de armazenamento, e pode estar relacionado à aclimação das hastes de manjeriço e ao estresse da colheita (Figura 7). O segundo pico foi observado no 4º dia de armazenamento e pode ser relacionado ao início da senescência dos tecidos vegetais. Alterações no conteúdo de enzimas PODs podem aumentar a atividade evando à senescência (FREITAS et al., 2008; ZHANG et al., 2011). A média de atividade enzimática foi 0,36 UA/min/mg, com atividade mínima de 0,11 UA/min/mg (dia 5), e máxima de 0,67 UA/min/mg (dia 2) (Figura 7).

Peroxidases constituem um grupo de enzimas que são agrupadas em três classes, das quais, as classes I e III são encontradas nos tecidos vegetais (VAN DOORN & KETSA, 2014). PODs e PPOs estão envolvidas na oxidação de antioxidantes endógenos, como compostos fenólicos, causando um decaimento do status antioxidante total da planta, aumentando os sintomas de injúria por frio durante o armazenamento a baixas temperaturas (SIBOZA et al., 2014). Devido às alterações fisiológicas decorrentes do dano por frio, a integridade das membranas vegetais é perdida, resultando na destruição da barreira biológica entre as enzimas POD e PPO e seus

substratos, levando a rápida oxidação de fenóis e consequente produção de pigmentos escuros denominados melaninas (SANTOS, 2009).

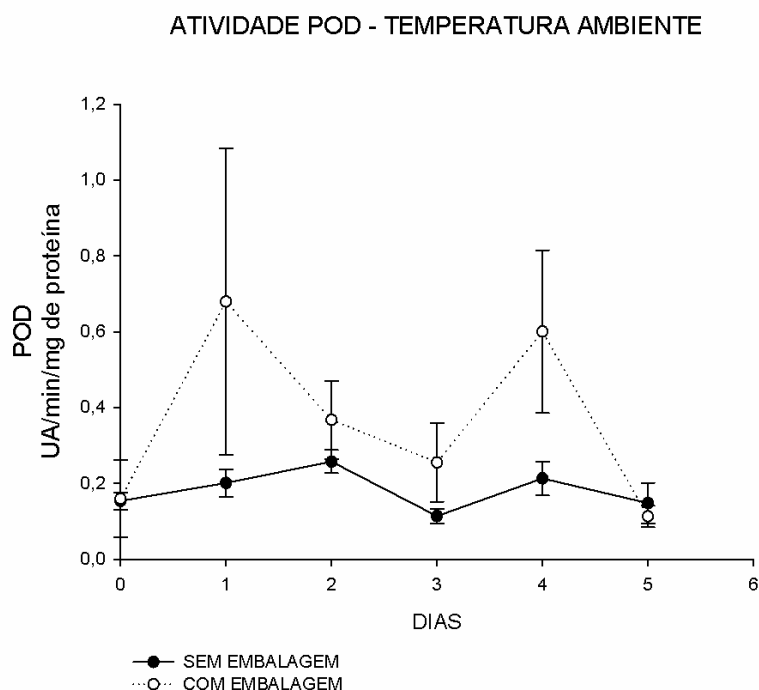


Figura 7- Atividade da POD (UA/min/mg de proteína) em ramos de manjeriço variedade 'Roxinho' na temperatura ambiente, com e sem a utilização de embalagens plásticas em função do tempo de armazenamento (0 a 5 dias). Viçosa, Minas Gerais, 2015.

No armazenamento à temperatura ambiente sem uso de embalagens, a atividade enzimática da POD foi em média 0,18 UA/min/mg de proteína nos cinco dias de análise. A atividade da POD teve pouca variação ao longo do armazenamento com mínimo de 0,11 UA/min/mg (dia 3) e máximo de 0,25 UA/min/mg (dia 2) (Figura 7).

Houve correlação entre a atividade enzimática na temperatura ambiente sem uso de embalagens com o teor de compostos fenólicos (Figura 1) e concentração de flavonoides (Figura 2). Compostos fenólicos são oxidados pelas enzimas POD e PPO, tipicamente resultando em escurecimento dos tecidos associados ao aumento da atividade destas enzimas (SIBOZA et al., 2014).

POD e PPO estão envolvidas no escurecimento enzimático e na deterioração dos vegetais. A atividade da POD e PPO está relacionada com o aumento na resposta aos

sintomas da injúria por frio, como necroses, pontoações e escurecimento. No entanto, os mecanismos fisiológicos de oxidação de antioxidantes endógenos pela ação enzimática ainda não estão completamente elucidados (SIBOZA et al., 2014).

No armazenamento à temperatura de 5 °C a média de atividade enzimática da POD foi maior no armazenamento com embalagens (Figura 8). No armazenamento com embalagens ocorreu pico no terceiro dia. A atividade da POD pode estar relacionada ao teor de compostos fenólicos e flavonoides também com maior concentração ao terceiro dia de armazenamento.

A atividade mínima de POD na temperatura de 5 °C com uso de embalagens foi 0,12 UA/min/mg (dia 4), e a máxima 0,46 UA/min/mg de proteína (dia 3). Houve um pico de atividade enzimática em POD no dia 3 (0,46 UA/min/mg), com decréscimo até o dia 5 (0,20 UA/min/mg). VICENTE et al. (2006) descreve resultados semelhantes para a atividade da POD no armazenamento de morangos cv. “selva” com a utilização de embalagens a 0 °C por quatorze dias.

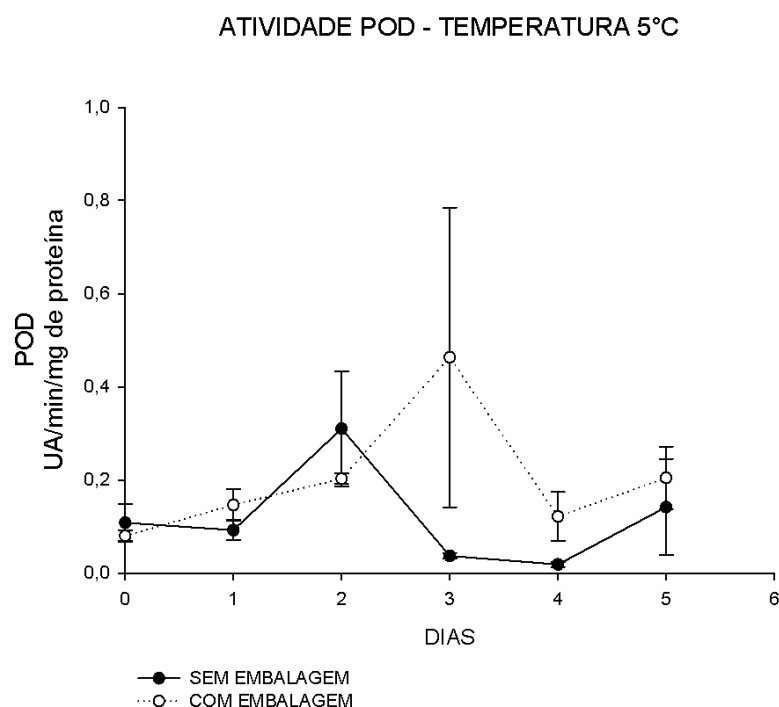


Figura 8- Atividade da POD (UA/min/mg de proteína) em ramos de manjeriço variedade ‘Roxinho’ na temperatura a 5 °C, com e sem a utilização de embalagens plásticas em função do tempo de armazenamento (0 a 5 dias). Viçosa, Minas Gerais, 2015.

No armazenamento à temperatura de 5 °C sem embalagem, ocorreu pico de atividade enzimática ao segundo dia de análise. A atividade mínima de POD na temperatura de 5 °C sem embalagens foi 0,01 UA/min/mg (dia 4), e a máxima 0,31 UA/min/mg de proteína (dia 2). A correlação da atividade enzimática de POD com os níveis de compostos fenólicos se deve ao fato de que POD causa o escurecimento dos tecidos vegetais, pois promove reação entre o peróxido de hidrogênio, utilizando compostos fenólicos livres ou quinonas como substrato (WONGSHEREE et al., 2009).

Flavonoides podem inibir a geração de EROs, e eliminá-los quando são formados. Flavonoides que estão localizados dentro ou muito próximo aos centros de geração de EROs em plantas estressadas, constituem sistema antioxidante secundário que complementa a ação das enzimas antioxidantes na eliminação dos EROs. Os flavonoides no vacúolo das células vegetais são considerados co-substratos às enzimas PODs vacuolares, e atuam auxiliando na redução dos níveis de H₂O₂ (DARWISH et al., 2015).

A correlação positiva entre os níveis de extravasamento de eletrólitos e atividade enzimática de POD em manjerição variedade 'Roxinho', ao longo de cinco dias de armazenamento à temperatura ambiente e 5 °C, com e sem embalagens significa que o estresse oxidativo causa o aumento da produção de EROs, destacando aqui peróxido de hidrogênio, que dentre outros danos celulares, causa extravasamento de eletrólitos e peroxidação de lipídeos e proteínas (DÍAZ-VIVANCOS et al., 2008). As PODs catalisam reações que causam o escurecimento através da geração de peróxido de hidrogênio proveniente do estresse oxidativo, utilizando fenólicos livres ou quinonas como substratos (WONGSHEREE et al., 2009).

Os processos fisiológicos promoveram aumento da atividade das enzimas antioxidativas, principalmente da classe das PODs que evitam a peroxidação de lipídeos e proteínas evitando, assim, a perda da compartimentalização celular, e consequentemente retardando a senescência dos tecidos vegetais (BARREIROS et al., 2006; O'BRIEN et al., 2012).

3.3.7- Determinação da atividade da catalase (CAT):

De forma geral, a maior média de atividade enzimática de CAT após cinco dias de armazenamento ocorreu à temperatura ambiente sem a utilização de embalagens (Figura 9). Esta atividade pronunciada pode estar associada ao estresse pós-colheita e as perdas de massa e transpiração. A atividade da CAT está associada ao estresse abiótico,

com atividade peroxidativa, podendo utilizar H_2O_2 na oxidação de substratos orgânicos e causar a peroxidação dos lipídeos das membranas (CAO et al., 2011).

A atividade da catalase está associada ao estresse oxidativo, assim a remoção do peróxido de hidrogênio pela CAT parece estar envolvido com a regulação da resposta ao estresse em plantas (DOORN & KETSA, 2014). A menor atividade de CAT durante o armazenamento refrigerado pode ser atribuído à baixa atividade de enzimas antioxidantes em plantas em estresse por frio (WONGSHEREE et al., 2009).

A atividade enzimática da CAT no armazenamento à temperatura de 5 °C foi inferior aquela observada à temperatura ambiente, a redução da atividade de CAT limita a tolerância da planta ao estresse ambiental (KAUPPANAPANDIAN et al., 2011), neste caso, o estresse por frio e a senescência dos tecidos vegetais. O aumento da atividade de CAT é interpretada como um traço adaptativo ajudando a superar os danos provenientes no metabolismo dos tecidos pela redução dos níveis tóxicos de H_2O_2 (KAUPPANAPANDIAN et al., 2011).

A temperatura ambiente os valores médios de atividade da CAT tiveram pequena variação entre os tipos de armazenamento com 7,66 $\mu\text{mol}/\text{min}/\text{mg}$ de proteína em embalagens plásticas, comparados com 7,44 $\mu\text{mol}/\text{min}/\text{mg}$ de proteína no armazenamento com a utilização de embalagens plásticas (Figura 9).

A atividade enzimática da CAT nas plantas à temperatura ambiente com embalagens teve pico ao dia 2 (15,04 $\mu\text{mol}/\text{min}/\text{mg}$ de proteína), com decaimento progressivo da atividade enzimática no restante dos dias, exceto no dia 5 (Figura 6).

ATIVIDADE CAT - TEMPERATURA AMBIENTE

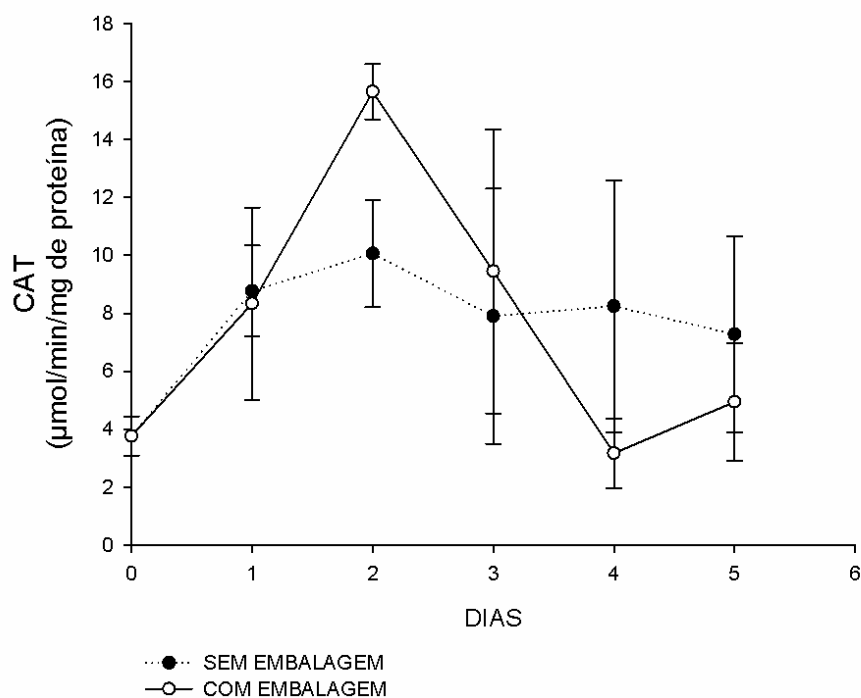


Figura 9- Atividade da CAT ($\mu\text{mol}/\text{min}/\text{mg}$ de proteína) em ramos de manjeriço variedade 'Roxinho' na temperatura ambiente, com e sem a utilização de embalagens plásticas em função do tempo de armazenamento (0 a 5 dias). Viçosa, Minas Gerais, 2015.

A atividade enzimática da CAT à temperatura ambiente sem utilização de embalagens teve discreto pico no dia 2 ($10,06 \mu\text{mol}/\text{min}/\text{mg}$ de proteína) com atividade ao longo do restante dos dias de armazenamento com pouca variação. VITOR (2014) descreveu resposta semelhante na atividade enzimática de CAT em manjeriço cv. 'Genovese' armazenado à temperatura ambiente durante quatro dias (Figura 9).

No armazenamento à de 5°C , os maiores valores médios de atividade enzimática da CAT foram nas plantas sem embalagens ($5,12 \mu\text{mol}/\text{min}/\text{mg}$ de proteína), comparadas a utilização de embalagens ($3,27 \mu\text{mol}/\text{min}/\text{mg}$ de proteína). O decaimento de atividade enzimática ao longo do tempo foi descrito por NUKUNTORNPRAKIT et al. (2015) no armazenamento refrigerado de abacaxi cv. 'Trad-See-Thong'.

No armazenamento a de 5°C , com embalagens, a atividade enzimática da CAT teve tendência a aumento ao longo do tempo, onde, ao fim de 5 dias foi observado

aumento em 25,1% da atividade enzimática (Figura 10). MESSIAS (2009) ao analisar manjeriço das variedades ‘Semi-roxo’ e ‘Branco’ armazenados com embalagens por 5 dias a 5 °C tiveram decréscimo semelhante na atividade enzimática da CAT. WONGSHEERE et al., (2009) observou atividade enzimática semelhante da CAT em folhas jovens e maduras de manjeriço *O. citriodourum*.

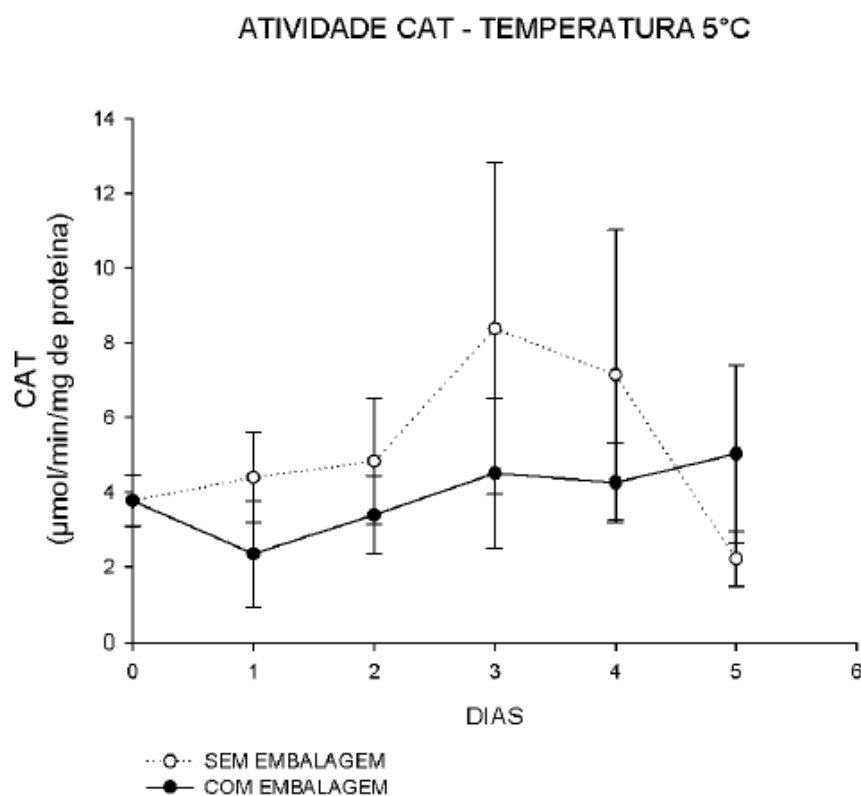


Figura 10- Atividade da CAT ($\mu\text{mol}/\text{min}/\text{mg}$ de proteína) em ramos de manjeriço variedade ‘Roxinho’ na temperatura a 5 °C, com e sem a utilização de embalagens plásticas em função do tempo de armazenamento (0 a 5 dias). Viçosa, Minas Gerais, 2015.

No armazenamento a 5 °C, sem utilização de embalagens, a atividade enzimática de CAT teve pico no dia 3 de análise ($8,37 \mu\text{mol}/\text{min}/\text{mg}$ de proteína), com decréscimo da atividade enzimática ao longo do restante do tempo de armazenamento de manjeriço (Figura 10). WONGSHEERE et al., (2009) observou atividade enzimática semelhante da CAT em folhas jovens e maduras de manjeriço *O. citriodourum*.

Os resultados dos efeitos dos tratamentos sobre a atividade da CAT estão correlacionados se com os resultados da análise visual e o extravasamento de eletrólitos, revelando a descoloração dos tecidos e o grau de rompimento das membranas,

evidenciando os sintomas visuais de injúria por frio e combinação com estresse abiótico proveniente da pós-colheita (baixa luminosidade, perda de massa fresca, deficiência de água e nutriente, entre outros) (COSTA et al., 2013), que coincidem com o aumento da atividade enzimática, possivelmente, confirmando a hipótese de que o acréscimo na atividade da CAT pode contribuir com a peroxidação de lipídios das membranas (VITOR, 2014; RESENDE et al., 2003).

3.3.8- Determinação da atividade da superóxido dismutase (SOD):

A família das metaloenzimas SOD catalisam a desprotonação do $O_2^{\cdot -}$ a H_2O_2 e O_2 , e estão presentes em todos os organismo aeróbicos e componentes subcelulares susceptíveis ao estresse oxidativo. SODs são classificadas em três tipos baseadas em seus cofatores metálicos, dois desses são similares Fe-SOD (localizados nos cloroplastos) e Mn-SOD (localizados nas mitocôndrias), e um outro que não é relacionado estruturalmente Cu/Zn-SOD (localizado nos cloroplastos, peroxissomos e citosol (KAUPPANAPANDIAN et al., 2011).

Na temperatura ambiente, os maiores valores médios de atividade enzimática de SOD ocorreram no armazenamento à temperatura ambiente sem utilização de embalagens (0,40 UA/min/mg de proteína) comparado com uso de embalagens (0,32 UA/min/mg de proteína) (Figura 11). A SOD atua como a primeira linha de defesa contra as EROs, eliminando o superóxido com a formação de peróxido de hidrogênio em grande parte dos compartimentos celulares, no entanto, este peróxido de hidrogênio é eliminado pelas enzimas peroxidases e CAT evitando o seu efeito nocivo (MONTEZ, 2014).

No armazenamento à temperatura ambiente com a utilização de embalagens, houve grande decréscimo de atividade enzimática de SOD até o dia 4 (0,20 UA/min/mg de proteína), com posterior aumento da atividade no dia 5 (0,42 UA/min/mg de proteína).

A atividade da enzima SOD foi superior no armazenamento à temperatura ambiente comparado a 5 °C durante o armazenamento pós-colheita de manjeriço ao longo de cinco dias (Figura 11). A atividade de SOD sob vários tipos de estresses abióticos, como seca, salinidade, temperaturas extremas, encharcamentos e presença de metais pesados sugerem que diferentes mecanismos podem estar envolvidos nas injúrias por estresse oxidativo (KAUPPANAPANDIAN et al., 2011).

ATIVIDADE SOD - TEMPERATURA AMBIENTE

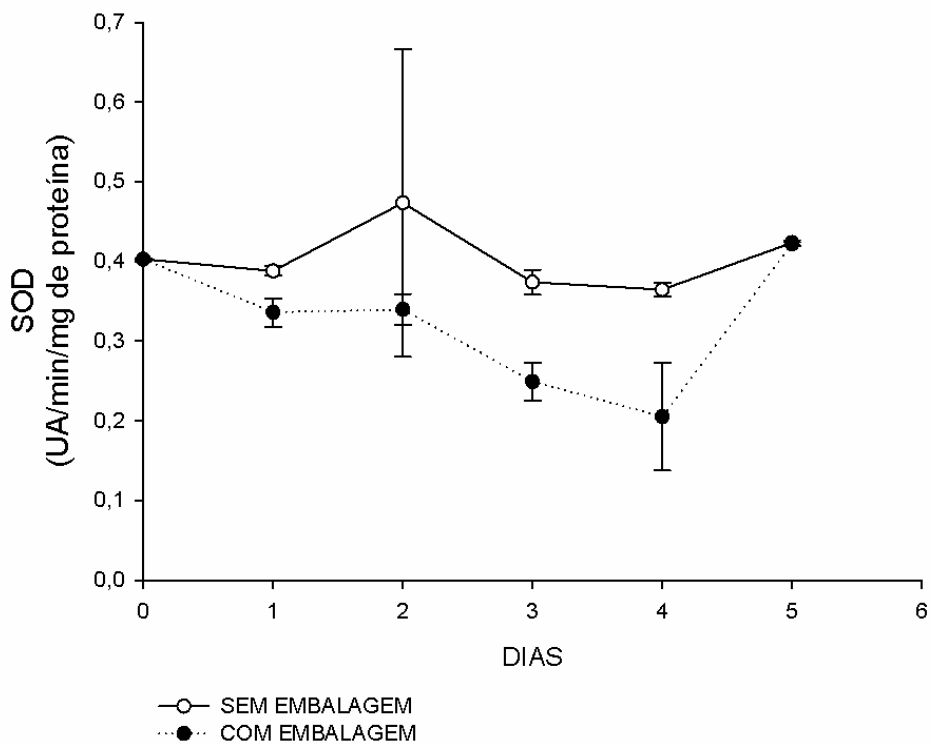


Figura 11- Atividade da SOD (UA/min/mg de proteína) em ramos de manjeriço variedade 'Roxinho' na temperatura ambiente, com e sem a utilização de embalagens plásticas em função do tempo de armazenamento (0 a 5 dias). Viçosa, Minas Gerais, 2015.

No armazenamento à temperatura ambiente sem utilização de embalagens, houve tendência ao aumento da atividade enzimática da SOD até o dia 2 (0,47 UA/min/mg de proteína), com decréscimo nos dias 3 e 4, e posterior aumento ao dia 5 (0,42 UA/min/mg de proteína).

À temperatura de 5 °C, a maior média de atividade enzimática de SOD ao longo de 5 dias de armazenamento ocorreu nos tratamentos sem embalagens (0,36 UA/min/mg de proteína), comparado com embalagens (0,33 UA/min/mg de proteína) (Figura 12).

No armazenamento a 5 °C com a utilização de embalagens, ocorreu acentuada queda da atividade enzimática da SOD ao dia 2 (0,18 UA/min/mg de proteína), com posterior aumento até o dia 5 (0,41 UA/min/mg de proteína). VICENTE et al. (2006)

descreve resultados semelhantes da atividade da SOD no armazenamento de morangos cv. “selva” com a utilização de embalagens a 0°C por sete dias.

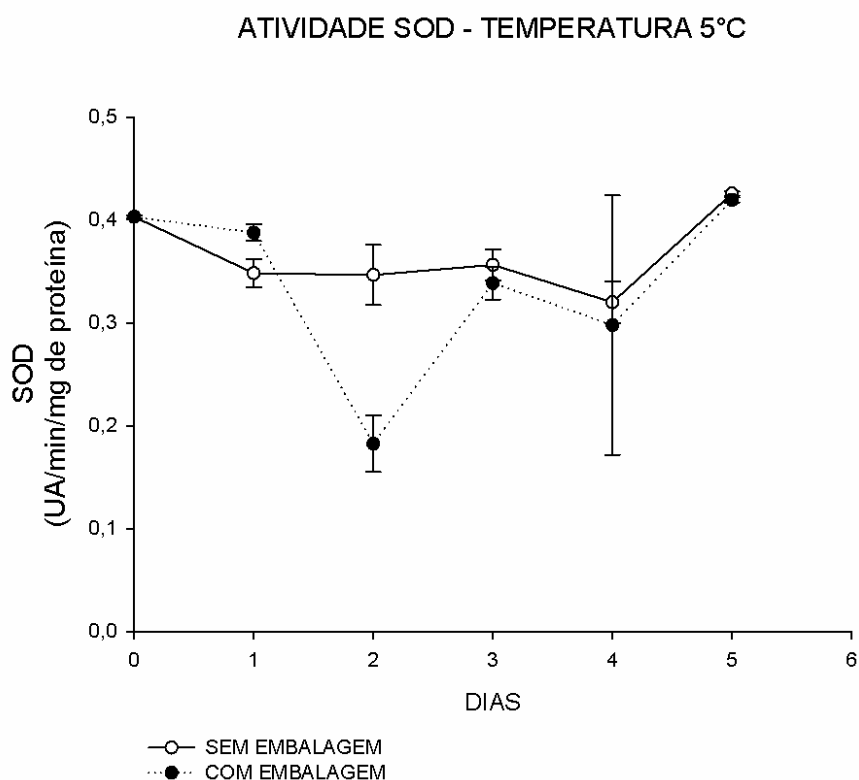


Figura 12- Atividade da SOD (UA/min/mg de proteína) em ramos de manjeriço variedade ‘Roxinho’ na a 5 °C, com e sem a utilização de embalagens plásticas em função do tempo de armazenamento (0 a 5 dias). Viçosa, Minas Gerais, 2015.

No armazenamento a 5 °C sem a utilização de embalagens, ocorreu queda discreta da atividade enzimática da SOD ao dia 2 (0,34 UA/min/mg de proteína), com outro decréscimo ao dia 4 (0,31UA/min/mg de proteína) e aumento ao dia 5 (0,42UA/min/mg de proteína) (Figura 12). CAO et al. (2009) e XU et al. (2012) observaram resultados semelhantes na atividade de SOD em frutos de nêspera sem utilização de embalagens (tratamentos controle), com aumento da atividade enzimática ao longo do tempo de armazenamento.

Em plantas, as SODs podem ser encontradas em todos os compartimentos da célula capazes de produzir EROs, particularmente em cloroplastos, mitocôndria e peroxissomos, os principais sítios de produção de EROs na célula vegetal (SILVEIRA et al., 2010).

Houve alguma relação entre os níveis de extravasamento de eletrólitos e a atividade enzimática de SOD em manjerição variedade ‘Roxinho’, ao longo de cinco dias de armazenamento em condições de temperatura ambiente e 5°C, com e sem a utilização de embalagens plásticas. O estresse oxidativo causa aumento da produção de EROs, com destaque dos radicais superóxido e peróxido de hidrogênio, que dentre outros danos celulares, causam extravasamento de eletrólitos, peroxidação de lipídeos e proteínas, quedas nas taxas fotossintéticas (DÍAZ-VIVANCOS et al., 2008). O metabolismo vegetal então promove aumento da atividade das enzimas antioxidativas, tais como SOD e POD (O’BRIEN et al., 2012).

A correlação entre a atividade da SOD e POD no armazenamento de ramos de manjerição à temperatura de 5 °C, provavelmente foi resultado da ação das SODs na proteção oxidativa. Ocorre a produção imediata do H₂O₂, outro tipo de EROs que é removido da célula pela ação de diferentes peroxidases (SILVEIRA et al., 2010).

3.3.9- Determinação da atividade da polifenol oxidase (PPO):

A enzima PPO catalisa dois diferentes tipos de reações utilizando oxigênio molecular: a hidroxilação de monofenóis a o-difenóis (atividade difenolase); e a oxidação de o-difenóis a o-quinonas (atividade difenolase). Essa enzima é amplamente distribuída em plantas, microorganismos e animais (LATORRE et al., 2010). É a enzima chave na biossíntese de melanina e no escurecimento de frutas e vegetais.

Os substratos da PPO são os compostos fenólicos, e estes após a sua síntese são armazenados no vacúolo celular. O fato da PPO e seus substratos estarem presentes em diferentes compartimentos celulares faz com que o escurecimento enzimático seja uma consequência da desintegração dos tecidos. A integridade da membrana é perdida após danos causados nos tecidos durante a senescência ou injúria resultando na destruição da barreira biológica entre a PPO e seus substratos, levando a rápida oxidação de fenóis e consequente produção de pigmentos escuros (SANTOS, 2009).

A maior média de atividade da PPO ao longo dos seis dias de análise ocorreu no armazenamento à temperatura de 5 °C sem utilização de embalagens plásticas (Figura 14). Resultado semelhante foi observado por VITOR (2014) com maior atividade da PPO em manjerição cv. ‘Genovese’ armazenado a 5 °C, e por BOO et al. (2011) em alface. A atividade da PPO é mais alta em baixas temperaturas (BOO et al., 2011).

A PPO é encontrada nos plastídios em tecidos saudáveis e somente na degeneração ou em tecido senescente ela ocorre livre no citoplasma (SANTOS, 2009).

Em situações de injúria e perda de estrutura dos tecidos, a PPO promove a oxidação enzimática de compostos fenólicos, produzindo, inicialmente, quinona que rapidamente é condensada, formando pigmentos insolúveis e escuros, denominados melanina, ou reação de forma não enzimática com aminoácidos, proteínas ou outros compostos (MENOLLI et al., 2008).

As enzimas PPOs podem aumentar o escurecimento via interferência com as enzimas PODs, ou podem atuar de maneira independente. As PPOs utilizam compostos fenólicos como substrato, e sua atividade está correlacionada com os sintomas de injúria por frio (WONGSHEREE et al., 2009).

Na análise à temperatura ambiente, os maiores médios da atividade da PPO ocorreram nos tratamentos com a utilização de embalagens (0,31 UA/min/mg de proteína), comparados com aqueles sem utilização de embalagens (0,25 UA/min/mg de proteína) (Figura 13).

A atividade enzimática da PPO à temperatura ambiente no armazenamento com embalagens teve um pico no dia 1 (0,50 UA/min/mg de proteína), com queda acentuada da atividade de 46% no dia 2 de análise (0,23 UA/min/mg de proteína), nos dias subsequentes a atividade teve pouca variação (Figura 13). Resultado semelhante, com pico de atividade da PPO no início do armazenamento foi observado em abacate cv. 'Fuerte' armazenado à temperatura ambiente (VIEITE et al., 2012).

O pico de atividade da PPO no início do armazenamento pode ser atribuído à aclimação das hastes de manjeriço e ao estresse causado pela colheita. Visto que a atividade da PPO pode ser utilizada como marcador bioquímico do estresse resultante de fatores bióticos e abióticos (BARBOSA et al., 2014).

ATIVIDADE PPO - TEMPERATURA AMBIENTE

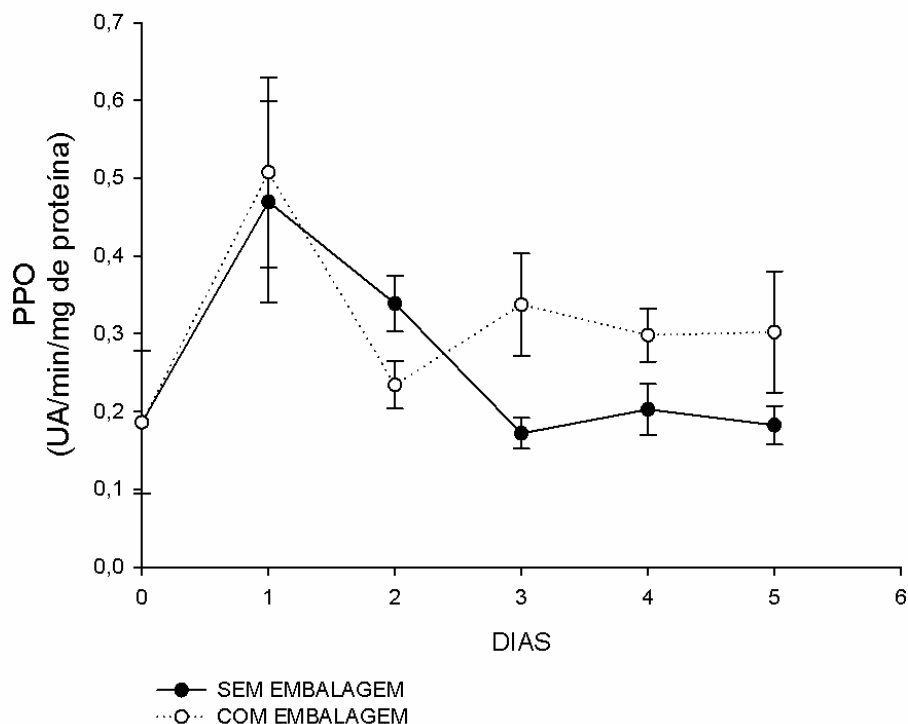


Figura 13- Atividade da PPO (UA/min/mg de proteína) em ramos de manjeriço variedade 'Roxinho' na temperatura ambiente, com e sem a utilização de embalagens plásticas em função do tempo de armazenamento (0 a 5 dias). Viçosa, Minas Gerais, 2015.

A atividade da PPO à temperatura ambiente durante o armazenamento sem embalagens também teve atividade máxima no dia 1 (0,46 UA/min/mg de proteína), com decaimento progressivo de atividade enzimática até o dia 3 (0,17 UA/min/mg de proteína), e nos dias subsequentes pouca variação da atividade da PPO (Figura 13). Observou-se correlação positiva entre a atividade enzimática da PPO e a concentração de compostos fenólicos (Figura 1).

A temperatura ambiente os picos da atividade da PPO possivelmente foram causados pela senescência dos tecidos vegetais. A atividade da PPO é geralmente alta em tecidos sujeitos a estresse abiótico, e está envolvida com o mecanismo de senescência vegetal (FREITAS et al., 2008).

Na análise a 5 °C, os maiores valores médios de atividade enzimática da PPO ocorreram no armazenamento sem utilização de embalagens plásticas (0,39 UA/min/mg

de proteína), comparados aqueles com a utilização de embalagens (0,32 UA/min/mg de proteína) (Figura 14).

A atividade enzimática da PPO a 5 °C no armazenamento com embalagens teve um pico de atividade no dia 1 (0,50 UA/min/mg de proteína), com decréscimo progressivo da atividade enzimática até o dia 5 (0,19 UA/min/mg de proteína) (Figura 14).

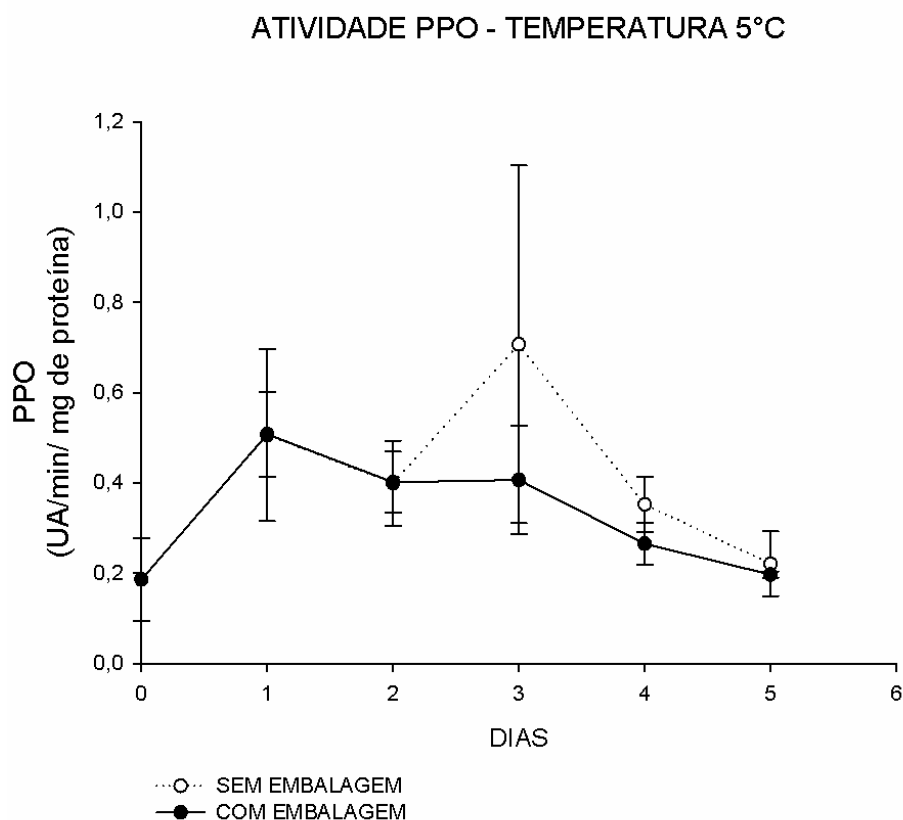


Figura 14- Atividade da PPO (UA/min/mg de proteína) em ramos de manjeriço variedade 'Roxinho' na temperatura a 5 °C, com e sem a utilização de embalagens plásticas em função do tempo de armazenamento (0 a 5 dias). Viçosa, Minas Gerais, 2015.

A atividade da PPO a 5 °C no armazenamento sem embalagens teve dois picos de atividade enzimática, o primeiro no dia 1 (0,50 UA/min/mg de proteína), e o segundo no dia 3 (0,79 UA/min/mg de proteína), com posterior declínio da atividade até o dia 5 de armazenamento. A correlação foi positiva entre a atividade da PPO nestas condições de armazenamento com o teor de compostos fenólicos (Figura 1).

A PPO exibe atividade hidroxilase (monofenolase) em monofenóis e atividade oxidase (difenolase) em o-difenóis que são convertidos a o-quinonas. A PPO promove a conversão dos monofenóis em duas etapas consecutivas, que envolvem o oxigênio molecular. Na primeira etapa o monofenol é hidroxilado ao seu correspondente o-difenol (a atividade hidroxilase da enzima). Na segunda etapa, o o-difenol é oxidado à sua correspondente o-quinona (a atividade difenolase da enzima), enquanto que a enzima é oxidada de volta à sua forma nativa pelo oxigênio molecular (ROSATTO et al., 2001).

Pode ser atribuída a maior atividade enzimática no armazenamento a 5 °C sem embalagens a combinação do estresse por frio e a correlação positiva com a perda de massa fresca. Em todas as condições de armazenamento, houve decréscimo ao longo do tempo da atividade da enzima PPO. Resultados semelhantes foram observados em abacate cv. 'Fuerte' armazenado à temperatura ambiente e a 10 °C (VIEITES et al., 2012), e em jabuticaba cv. 'Sabará' armazenada a baixas temperaturas (VIEITES et al., 2011).

A PPO é apontada como uma das enzimas importantes de defesa vegetal, pois em situações de dano nos tecidos e injúrias, a compartimentalização é perdida e a PPO, que é plastidial, reage com os substratos fenólicos do vacúolo, levando a formação das quinonas e suas consequências. Os tecidos impregnados com os polímeros atuam como barreiras para as infecções e injúrias, formando uma defesa contra a penetração de microorganismos ou retardando sua proliferação. Porém, tais substâncias conferem muitas vezes características comerciais e nutricionais indesejáveis aos produtos vegetais (SANTOS, 2009).

Esses pigmentos marrons característicos do escurecimento enzimático, que ocorre durante o manejo, armazenamento e processamento de frutas e vegetais levam a modificações organolépticas e nutricionais, resultando na maioria dos casos em produtos de aparência ruim com consequente rejeição (SANTOS, 2009).

3.4- CONCLUSÕES:

- O rendimento dos extratos secos, calculado em função da massa fresca inicial, foi em média $4,09 \pm 0,87\%$;
- A concentração de compostos fenólicos aumentou até o terceiro dia de armazenamento em todos os tratamentos, decrescendo após este período em virtude do processo de senescência;
- As folhas tiveram maior concentração de compostos fenólicos no armazenamento à temperatura ambiente;
- A concentração de flavonoides teve aumento ao longo do armazenamento pós-colheita em todos os tratamentos, exceto no armazenamento a $5\text{ }^{\circ}\text{C}$ com utilização de embalagens;
- Houve maior atividade antioxidante no armazenamento das folhas à temperatura ambiente;
- Nos tratamentos sem embalagem nas temperaturas ambiente e a $5\text{ }^{\circ}\text{C}$, diminuição da atividade antioxidante ao longo do tempo;
- A atividade enzimática da POD foi superior nos tratamentos com a utilização de embalagens, nas duas temperaturas de armazenamento;
- A atividade enzimática da CAT foi superior nos tratamentos sem a utilização de embalagens nas duas temperaturas de armazenamento;
- A atividade enzimática da SOD foi superior nos tratamentos sem a utilização de embalagens nas duas temperaturas de armazenamento;
- Os maiores valores para a atividade enzimática da PPO foram observados a temperatura de $5\text{ }^{\circ}\text{C}$ sem utilização de embalagem;
- A concentração de carotenoides foi maior nos tratamentos armazenados à temperatura de $5\text{ }^{\circ}\text{C}$ sem utilização de embalagens;
- Houve correlação positiva entre a atividade das enzimas POD e PPO com o teor de compostos fenólicos;
- Houve correlação positiva entre a atividade das enzimas POD, CAT e SOD com o extravasamento de eletrólitos;
- Devido aos dados obtidos através das análises propostas o armazenamento comercial de manjeriço (*O. basilicum* L.) variedade 'Roxinho' à temperatura ambiente com a utilização de embalagens plásticas.

3.5- REFERÊNCIAS:

AEBI, H. Catalase in vitro. In Parker, L., (Ed.), *Methods in Enzymology*, **Academic Press**, San Diego, 105, p. 121-126, 1964.

ANTUNES, L.E.C.; GONÇALVEZ, E.D.; TREVISAN, R. Alterações de compostos fenólicos e pectina em pós-colheita de frutos de amora-preta. **Revista Brasileira de Agrociências**, v.12, n.1, p. 57-61, 2006.

BARBOSA, M.R.; SILVA, M.M.A.; WILLADINO, L.; ULISSES, C.; CAMARA, T.R. Geração e desintoxicação enzimática de espécies reativas de oxigênio em plantas. **Ciência Rural**, v.44, n.3, p.453-460, 2014.

BARREIROS, A.L.S.; DAVID, J.M.; DAVID, J.P. Estresse oxidativo: relação entre geração de espécies reativas e defesa do organismo. **Química Nova**, v. 29, n. 1, p. 113-123, 2006.

BEKHRADI, F.; LUNA, M.C.; DELSHAD, M.; JORDAN, M.J.; SOTOMAYOR, J.A.; MARTÍNEZ-CONESA, C.; GIL, M.I. Effect of deficit irrigation on the postharvest quality of different genotypes of basil including purple and green Iranian cultivars and a Genovese variety. **Postharvest Biology and Technology**, v.100, p. 127–135, 2015.

BOO, Hee-Ock; HEO, Buk-Gu; GORINSTEIN, S.; CHOND, Sang-Uk. Positive effects of temperature and growth conditions on enzymatic and antioxidant status in lettuce plants. **Plant Science** , v. 181, p. 479–48, 2011.

BORGO, J.; XAVIER, C.A.G.; MOURA, D.J.; RICHTER, M.F.; SUYENAGA, E.S. Influência dos processos de secagem sobre o teor de flavonoides e na atividade antioxidante dos extratos de *Baccharis articulata* (Lam.) Pers., Asteraceae. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v.20, n.1, p.12-17, 2010.

BRADFORD, M. M. A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. **Analytical Biochemistry**, v.72, p. 248-254, 1976.

CAMPOS, P.S.; QUARTIN, V.; RAMALHO, J.C.; NUNES, M.A. Electrolyte leakage and lipid degradation account for cold sensitivity in leaves of Coffea sp. plants. **Journal of Plant Physiology**, v.160, p. 283–292, 2003.

CAO, S.; YANG, Z.; CAI, Y.; ZHEN, Y. Fatty acid composition and antioxidant system in relation to susceptibility of loquat fruit to chilling injury. **Food Chemistry**, v. 127, p. 1777–1783, 2011.

CAO, S.; ZHENG, Y.; WANG, K.; JIN, P.; RUI, H. Methyl jasmonate reduces chilling injury and enhances antioxidant enzyme activity in postharvest loquat fruit. **Food Chemistry**, v. 115, p. 1458–1463, 2009.

CATANEO, A.C.; CHAMMA, K.L.; FERREIRA, L.C.; DÉSTRO, G.F.G.; SOUSA, D.C.F.

Atividade de superóxido dismutase em plantas de soja (*Glycine max* L.) cultivadas sob estresse oxidativo causado por herbicida. **Revista Brasileira de Herbicida**, v.4, n.2, 2005.

CHENG, Y.; LIU, L.; ZHAO, G.; SHEN, C.; YAN, H.; GUAN, J.; YANG, K. The effects of modified atmosphere packaging on core browning and the expression patterns of PPO and PAL genes in ‘Yali’ pears during cold storage. **LWT - Food Science and Technology**, v. 60, p. 1243-1248, 2015.

COSTA, L.; MONTANO, Y.M.; CARRIÓN, C.; ROLNY, N.; GUIAMET, J.J. Application of low intensity light pulses to delay postharvest senescence of *Ocimum basilicum* leaves. **Postharvest Biology and Technology**, v. 86, p. 181–191, 2013.

DAIUTO, E.R.; CABIA, N.C.; FUMES, J.G.F.; VIEITES, R.L.; CARVALHO, L.R.; GARCIA, M.R. Capacidade anti radical livre e qualidade pós-colheita de abacate ‘Hass’. **Revista Brasileira de Produtos Agroindustriais**, v.14, n.1, p.51-62, 2012.

DARWISH, M.; LOPEZ-LAURI, F.; VIDAL, V.; MAÂTAOUI, M.E.; SALLANON, H. Alternation of light/dark period priming enhances clomazone tolerance by increasing

the levels of ascorbate and phenolic compounds and ROS detoxification in tobacco (*Nicotiana tabacum* L.) plantlets. **Journal of Photochemistry and Photobiology**, v. 148, p. 9–20, 2015.

DÍAZ-VIVANCOS, P.; CLEMENTEE-MORENO, J.C.; RUBIO, M.; OLMOS, E.; GARCÍA, J.A.; MARTÍNEZ-GOMEZ, P.; HERNÁNDEZ, J.A. Alteration in the chloroplastic metabolism leads to ROS accumulation in pea plants in response to plum pox virus. **Journal of Experimental Botany**, v. 59, n. 8, p. 2147–2160, 2008.

FERRAEZE, J.P.; FUGATE, K.K.; BOLTON, M.D.; DECKARD, E.L.; CAMPBELL, L.G.; FINGER, F.L. Jasmonic acid does not increase oxidative defense mechanisms or common defense-related enzymes in postharvest sugarbeet roots. **Postharvest Biology and Technology**, v. 77, p. 11–18, 2013.

FREITAS, A.A.; FRANCELIN, M.F.; HIRATA, G.F.; CLEMENTE, E.; SCHMIDT, F.L. Atividades das enzimas peroxidase (POD) e polifenoloxidase (PPO) nas uvas das cultivares benitaka e rubi e em seus sucos e geleias. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v. 28, n. 1, p. 172-177, 2008.

HASSAN, F.A.S.; MAHFOUZ, S.A. Effect of 1-methylcyclopropene (1-MCP) treatment on sweet basil leaf senescence and ethylene production during shelf-life. **Postharvest Biology and Technology**, v. 55, p. 61–65, 2010.

JAYAPRAKASHA, G. K.; SINGH, R. P.; SAKARIAH, K. K. Antioxidant activity of grape seed (*Vitis vinifera*) extracts on peroxidation models in vitro. **Food Chemistry**, v. 73, n.3, p. 285-290, 2001.

JIMÉNEZ, C.I.E.; MARTÍNEZ, .Y.C.; FONSECA, J.G. Flavonoides y sus acciones antioxidantes. **Revista de la Facultad de Medicina UNAM**, v. 52, n. 2, 2009.

KAISOON, O.; SIRIAMORNUN, S.; WEERAPREEYAKL, N.; MEESO, N. Phenolic compounds and antioxidant activities of edible flowers from Thailand. **JOURNAL OF FUNCTIONAL FOODS**, v. 3, p. 88–99, 2011.

KAUPPANAPANDIAN, T.; MOON, J-C; KIM, C.; MANOHARAN, K.; KIM, W. Reactive oxygen species in plants: their generation, signal transduction, and scavenging mechanisms. **Australian Journal of Crop Science**, v. 5, n. 6, p.709-725, 2011.

KAVRAYAN, D.; AYDEMIR, T. Partial purification and characterization of polyphenoloxidase from peppermint (*Mentha piperita*). **Food Chemistry**, v. 74, p. 146-154, 2001.

LANDI, M.; PARDOSSI, A.; REMORINI, D.; GUID, L. Antioxidant and photosynthetic response of a purple-leaved and a green-leaved cultivar of sweet basil (*Ocimum basilicum*) to boron excess. **Environmental and Experimental Botany**, v. 85, p. 64–75, 2013.

LATORRE, M.E.; NARVAIZ, P.; ROJAS, A.M.; GERSCHENSON, L.N. Effects of gamma irradiation on bio-chemical and physico-chemical parameters of fresh-cut red beet (*Beta vulgaris* L. var. *conditiva*) root. **Journal of Food Engineering**, v. 98, p. 178–191, 2010.

LEE, J.; SCAGEL, C.F. Chicoric acid found in basil (*Ocimum basilicum* L.) leaves. **Food Chemistry**, v. 115, p. 650–656, 2009.

LICHTENTHALER, H. K. Chlorophylls and carotenoids: pigment photosynthetic biomembranes. **Methods Enzymol.** San Diego, v.148, p. 362-385, 1987.

LUO, Z.; WU, X.; XIE, Y.; CHEN, C. Alleviation of chilling injury and browning of postharvest bamboo shoot by salicylic acid. **Food Chemistry**, v. 131, p. 456–461, 2012.

MATINÉZ-TÉLLEZ, M.A.; LAFUENTE, M.T. Effect of High Temperature Conditioning on Ethylene, Phenylalanine Ammonia-lyase, Peroxidase and Polyphenol Oxidase Activities in Flavedo of Chilled Mandarin Fruit. **Journal of Plant Physiology**, v.150. p. 674-678, 1997.

MENDES, T.D.C.; SANTOS, J.S.; VIEIRA, L.M.; CARDOSO, D.S.C.P.; FINGER, F.L. Influência do dano físico na fisiologia pós-colheita de folhas de taioba. **Bragantia**, v. 70, n. 3, p.682-687, 2011.

MENOLLI, L.N.; FINGER, F.L.; PUIATTI, M.; BARBOSA, J.M.; BARROS, R.S. Atuação das enzimas oxidativas no escurecimento causado pela injúria por frio em raízes de batata-baroa. **Acta Scientiarum**, v. 30, n. 1, p. 57-63, 2008.

MILANI, L.I.G.; TERRA, N.N.; FRIES, L.M.; CICHOSKI, A.J.; REZER, A.P.S.; BACKES, A.M.; PARODIA, C.G. Atividade antioxidante e antimicrobiana in vitro de extratos de caqui (*Diospyros kaki* L.) cultivar Rama Forte. **Brazilian Journal of Food Technology**, v. 15, n. 2, p. 118-124, 2012.

MONTEZ, Ana Catarina Marques. Exposição e acumulação de elementos potencialmente tóxicos em manjeriço (*Ocimum basilicum*). 2014. 63f. Dissertação de Mestrado (Engenharia Alimentar – Qualidade e Segurança Alimentar) – Universidade de Lisboa, Lisboa.

MURTHY, K. N. C.; SINGH, R. P.; JAYAPRAKASHA, G. K. Antioxidant Activities of Grape (*Vitis vinifera*) Pomace Extracts. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 50, n. 21, p. 5909–5914, 2002.

NEVES, L.L. de M. 2003. Envolvimento de enzimas oxidativas no escurecimento do quiabo [*Abelmoschus esculentus* (L.) Moench]. 72p. Tese (Doutorado em Fisiologia Vegetal) – Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, MG.

NUKUNTORNPRAKIT, Om-Arum, CHANJIRAKUL, K.; VAN DOORN, W.G.; SIRIPHANICH, J. Chilling injury in pineapple fruit: Fatty acid composition and antioxidant metabolism. **Postharvest Biology and Technology**, v. 99, p. 20–26, 2015.

O'BRIEN, J.A.; DAUDI, A.; BUTT, V.S.; BOLWELL, G.P. Reactive oxygen species and their role in plant defence and cell wall metabolism. **Planta**, v. 236, p. 765–779, 2012.

OLIVEIRA, D.B. Quantificação dos Teores de Taninos e Fenóis Totais e Avaliação da Atividade Antioxidante dos Frutos de Aroeira. **Vértices**, v.3, p.117-128, 2011.

PADDA, M.S.; PICHA, D.H. Effect of low temperature storage on phenolic composition and antioxidant activity of sweetpotatoes. **Postharvest Biology and Technology**, v. 47, p. 176–180, 2008.

PITARO, S.P.; FIORANI, L.V.; JORGE, N. Potencial antioxidante dos extratos de manjeriço (*Ocimum basilicum* Lamiaceae) e orégano (*Origanum vulgare* Lamiaceae) em óleo de soja. **Revista Brasileira de Plantas Mediciniais**, v. 14, n. 4, p. 686-691, 2012.

POMPEU, GEORGIA BERTONI. Análise da resposta antioxidativas de células in vitro de fumo (*Nicotiana tabacum* cv BY-2) submetidas ao metal pesado níquel. 2005. 97f. Dissertação de Mestrado (Ecologia de Agroecossistemas) – Universidade de São Paulo Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”, Piracicaba.

RESENDE, L.V.; SALGADO, S.M.L.; CHAVES, Z.M. Espécies Ativas de Oxigênio na Resposta de Defesa de Plantas a Patógenos. *Fitopatol. bras.* 28(2), mar - abr 2003.

ROCHA, SURAYA ABDALLAH DA. ANTIOXIDANTES EM VEGETAIS PÓS-COLHEITA DE ORIGEM ORGÂNICA. 2010. 103f. Tese (Doutorado) – Universidade Estadual Paulista, Instituto de Biociências, Botucatu.

ROSATTO, S.S.; FREIRE, R.S. DURÁN, N.; KUBOTA, L.T. Biossensores amperométricos para determinação de compostos fenólicos em amostras de interesse ambiental. **Química Nova**, v. 24, v. 1, p. 77-86, 2001.

ROTILI, M.C.C.; VORPAGEL, J.A.; BRAGA, G.C.; KUHN, O.H.; SALIBE, A.B. Atividade antioxidante, composição química e conservação do maracujá-amarelo embalado com filme PVC. **Revista Brasileira de Fruticultura**, v. 35, n. 4, p. 942-952, 2013.

SAEG. Sistema para Análises Estatísticas, Versão 9.1: Fundação Arthur Bernardes - UFV - Viçosa, 2007.

SANTOS, IZABELLA RODRIGUES CHAVES DOS. Escurecimento enzimático em frutos: polifenoloxidase de atemóia (*Annona cherimola* Mill. X *Annona squamosa* L.). 2009. 119f. Dissertação (Mestrado em Alimentos e Nutrição) – Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”, Araraquara.

SEVERO, J.; LIMA, C.S.M.; COELHO, M.T.; RUFATTO, A.R.; ROMBALDI, C.V.; SILVA, J.A. Atividade antioxidante e fitoquímicos em frutos de *Physalis* (*Physalis peruviana* L.) durante o amadurecimento e o armazenamento. *Revista Brasileira de Agrociência*, v.16, n.1-4, p.77-82, 2010.

SIBOZA, X.I.; BERTLING, I.; ODINDO, A.O. Salicylic acid and methyl jasmonate improve chilling tolerance in cold-stored lemon fruit (*Citrus limon*). **Journal of Plant Physiology**, v. 171, p. 1722–1731, 2014.

SILVA. M.L.C.; COSTA, R.S.; SANTANA, A.S.; KOBLITZ, M.G.B. Compostos fenólicos, carotenóides e atividade antioxidante em produtos vegetais. **Semina: Ciências Agrárias**, v. 31, n. 3, p. 669-682, 2010.

SILVEIRA, J. A. G.; SILVA, S. L. F.; SILVA, E. N.; VIÉGAS, R. A. Mecanismos biomoleculares envolvidos com a resistência ao estresse salino em plantas. In: GHEYI, H. R.; DIAS, N. S.; LACERDA, C. F. (editores). *Manejo da salinidade na agricultura: estudos básicos e aplicados*. 1. ed. Fortaleza: INCTSal. 2010. cap. 11, p. 161-18.

SIVAKUMAR, D.; BAUTISTA-BAÑOS, S. A review on the use of essential oils for postharvest decay control and maintenance of fruit quality during storage. **Crop Protection**, v. 64, p. 27-37, 2014.

SOARES, A.M.S.; MACHADO, O.L.T. Defesa de plantas: Sinalização química e espécies reativas de oxigênio. **Revista Tropica**, v.1, n. 1, p. 9, 2007.

TSANTILI, E.; SHINA, Y.; NOCKA, J.F.; WATKINS, C.B. Antioxidant concentrations during chilling injury development in peaches. **Postharvest Biology and Technology**, v. 57, p. 27–34, 2010.

TURKMEN, N.; SARI, F.; VELIOGLU, Y.S. Effects of extraction solvents on concentration and antioxidant activity of black and black mate tea polyphenols determined by ferrous tartrate and Folin–Ciocalteu methods. **Food Chemistry**, v. 99, p. 835–841, 2006.

VALENTE, THAÍS CAINÃ TEIXEIRA. Expressão gênica e atividade da Catalase e Fenilalanina amônia-ase ativadas por indutores de resistência em cafeeiro. 2012. 67f. Dissertação (Mestrado em Biotecnologia Vegetal) – Universidade Federal de Lavras, Lavras.

VAN DOORN, W.G; KETSA, S. Cross reactivity between ascorbate peroxidase and phenol (guaiacol) peroxidase. **Postharvest Biology and Technology**, v. 95, p. 64–69, 2014.

VICENTE, A.R.; MARYÍNEZ, G.A.; CHAVES, A.R.; CIVELLO, P.M. Effect of heat treatment on strawberry fruit damage and oxidative metabolism during storage. **Postharvest Biology and Technology**, v. 40, p. 116–122, 2006.

VIEIRA, D.A.; SANTOS, P.S.; HAMINIUK, C.W.I.; PLATA-OVIEDO, M.S.V. Avaliação da atividade antioxidante das folhas de guariroba e ora-pro-nobis. *Revista Brasileira de Pesquisa em Alimentos*, v. 1, n. 2, p. 129-134, 2010.

VIEITES, R.L.; DAIUTO, E.R.; FUMES, J.G.F. CAPACIDADE ANTIOXIDANTE E QUALIDADE PÓS-COLHEITA DE ABACATE ‘FUERTE’. **Revista Brasileira de Fruticultura**, v. 34, n. 2, p. 336-348, 2012.

VIEITES, R.L.; DAIUTO, E.R.; MORAES, M.R.; NEVES, L.C.; CARVALHO, L.R. Caracterização físico-química, bioquímica e funcional da jabuticaba armazenada sob diferentes temperaturas. **Revista Brasileira de Fruticultura**, v. 33, n. 2, p. 362-375, 2011.

VITOR, Débora Monique. Enzimas oxidativas na expressão da injúria por frio em manjericão (*Ocimum basilicum* L.) cv. Genovese em vaso na simulação do transporte. 2014. 87f. Dissertação de Mestrado (Fisiologia Vegetal) – Universidade Federal de Viçosa, Viçosa.

WELBURN, A. R.. The spectral determination of chlorophylls a and b, as well as total carotenoids, using various solvents with spectrophotometers of different resolution. **Journal of Plant Physiology**, v.144, p. 307-313, 1994.

WHITLOW, T.H.; BASSUK, N.L.; RANNEY, T.G.; REICHERT, D.L. Na improved method for using electrolyte leakage to asses membrane competence in plant tissues. **Plant Physiology**, v.98, p. 198-205, 1992.

WONGSHEREE, T. KETSA, S.; VAN DOORN, W.G. The relationship between chilling injury and membrane damage in lemon basil (*Ocimum × citriodourum*) leaves. **Postharvest Biology and Technology**, v. 51, p. 91–96, 2009.

XU, M.; DONG,J.; ZHANG, M.; XU, X.; SUN. L. Cold-induced endogenous nitric oxide generation plays a role in chilling tolerance of loquat fruit during postharvest. **Postharvest Biology and Technology**, v. 65, p. 5–12, 2012.

ZHANG, H.; HU, SHU-LI; ZHANG, ZE-JUN; HU, LAN-YING, JIANG, CHENG-XI; WEI, ZHAO-JUN; LIU, J.; WANG, HUI-LI; JIANG, SHAO-TONG. Hydrogen sulfide acts as a regulator of flower senescence in plants. **Postharvest Biology and Technology**, v. 60, p. 251–257, 2011.

ZHOU, B.; DENG, Y.; KONG, F.; LI, B.; MENG, Q. Overexpression of a tomato carotenoid 3-hydroxylase gene alleviates sensitivity to chilling stress in transgenic tobacco. **Plant Physiology and Biochemistry**, v. 70, p. 235-245, 2013.

4- CONCLUSÃO GERAL:

A utilização de embalagens plásticas promoveu o aumento da vida de prateleira no armazenamento pós-colheita de manjeriço durante 5 dias para a temperatura ambiente e a 5°C. Além disso, na temperatura de armazenamento a 5 °C, as embalagens diminuíram os sintomas de injúria por chilling.

A utilização de embalagens plásticas diminuíram o extravasamento de eletrólitos e as perdas de massa fresca em ambas as temperaturas de armazenamento, retardando a senescência dos tecidos vegetais.

Com relação ao teor de antioxidantes endógenos (compostos fenólicos, flavonoides e carotenoides), a concentração destes foi menor nos tratamentos à temperatura de 5 °C. Este comportamento é explicado pelo fato de que a atividade antioxidante é inferior nas plantas em condições de estresse abiótico, tal como chilling.

A atividade enzimática da POD foi superior nos tratamentos com a utilização de embalagens nas duas temperaturas de armazenamento. A atividade das enzimas CAT e SOD foram superiores nos tratamentos sem a utilização de embalagens nas as duas temperaturas de armazenamento. Os maiores valores para a atividade enzimática da PPO foram observados a temperatura de 5°C sem utilização de embalagem, justificando o dano celular em virtude da injúria por chilling.

Houve correlação positiva entre a atividade das enzimas POD e PPO com o teor de compostos fenólicos. Houve correlação positiva entre a atividade das enzimas POD, CAT e SOD com o extravasamento de eletrólitos.

De acordo com os resultados obtidos, manjeriço (*O. basilicum* L.) variedade “Roxinho” deve ser armazenado à temperatura ambiente em embalagens plásticas.

5- APÊNDICE:

Apêndice A – Aspecto do manjeriçao (*O. basilicum* L.) variedade “Roxinho”. Viçosa, 2015.



Apêndice B – Aspecto do manjeriço variedade “Roxinho” durante o período de armazenamento (0 a 5 dias), à temperatura ambiente e a 5 °C, com e sem utilização de embalagens plásticas. Viçosa, 2015.

Dia 0



Dia 1

TA-SE



TA-E



5 °C-SE



5 °C-E



Dia 2

TA-SE



TA-E



5 °C-SE



5 °C-E



Dia 3

TA-SE



TA-E



5 °C-SE



5 °C-E



Dia 4

TA-SE

TA-E

5 °C-SE

5 °C-E



Dia 5

TA-SE

TA-E

5 °C-SE

5 °C-E



Apêndice C- Quadro de análise de variância para experimento instalado em um esquema de parcelas subdivididas, tendo nas parcelas um esquema fatorial 2x2 (2 temperaturas, 2 embalagens) e nas subparcelas os tempos de avaliação no Delineamento Inteiramente Casualizado (D.I.C.) com quatro repetições. Viçosa, 2015.

F.V.	G.L.	MFR	FLAV	ANT	CAR	COPF	EXT
EMB	1	32902,85**	7,92 ^{ns}	126,27**	0,13**	2972,82**	5871,87**
TEMP	1	55,70**	0,34 ^{ns}	238,96**	0,0076 ^{ns}	3368,69**	286,85 ^{ns}
EMBxTEMP	1	349,62**	2,92 ^{ns}	507,68**	0,0008 ^{ns}	96,87 ^{ns}	357,23 ^{ns}
R(a)	12	11,27	2,90	10,20	0,0050	32,76	175,68
D	4	1322,89**	2,07 ^{ns}	394,77**	0,00193**	1444,66**	582,30**
DxEMB	4	615,85**	1,14 ^{ns}	384,47**	0,0108 ^{ns}	648,99**	1636,35**
DxTE	4	83,52**	1,50 ^{ns}	420,85**	0,0329**	102,94**	423,65 ^{ns}
DXTEXEMB	4	47,43 ^{ns}	13,42 ^{ns}	21,13 ^{ns}	0,0204**	86,22**	1722,74**
R(b)	48	26,22	0,85	11,49	0,0047	17,17	121,54
CV(%) parcela		11,73	61,25	5,02	35,35	25,74	27,79
CV(%) sub parcela		17,9	33,09	5,32	33,17	18,63	23,12

** F significativo a 5% de probabilidade.