Universidade de São Paulo
Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”

**Respostas fisiológicas, bioquímicas e microbiológicas de beterrabas
minimamente processadas e inteiras submetidas a tratamentos pós-colheita**

Andressa Araujo Picoli

Dissertação apresentada para obtenção do título
de Mestre em Agronomia. Área de concentração:
Fitotecnia

Piracicaba
2008

Andressa Araujo Picoli
Engenheiro Agrônomo

Respostas fisiológicas, bioquímicas e microbiológicas de beterrabas minimamente processadas e inteiras submetidas a tratamentos pós-colheita

Orientador:
Prof. Dr. **RICARDO ALFREDO KLUGE**

Dissertação apresentada para obtenção do
título de Mestre em Agronomia. Área de
concentração: Fitotecnia

Piracicaba
2008

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP)
DIVISÃO DE BIBLIOTECA E DOCUMENTAÇÃO - ESALQ/USP

Picoli, Andressa Araujo

Respostas fisiológicas, bioquímicas e microbiológicas de beterrabas minimamente processadas e inteiras submetidas a tratamentos pós-colheita / Andressa Araujo Picoli. - Piracicaba, 2008.
67 p. : il.

Dissertação (Mestrado) - - Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz, 2008.
Bibliografia.

1. Beterraba – Propriedades físico-químicas 2. Metabolismo secundário 3. Microbiologia de alimentos 4. Pós-colheita 5. Processamento de alimentos I. Título

CDD 633.41
P598r

“Permitida a cópia total ou parcial deste documento, desde que citada a fonte – O autor”

Aos meus pais, Cândida e Carlos,

Pela confiança, apoio e exemplo de vida que tornaram possível a realização de mais uma etapa de minha vida.

Á minha irmã, Mi

Pela amizade verdadeira e por estar ao meu lado sempre!

Ao meu namorado Gabriel

Pelo amor, grande cumplicidade, constante incentivo e apoio!

AGRADECIMENTOS

À Coordenação do PPG-Fitotecnia pela oportunidade de realização deste curso.

À FAPESP pela concessão da bolsa de estudo e suporte financeiro do projeto.

Ao Prof. Dr. Ricardo Alfredo Kluge pela orientação, dedicação e compreensão, fundamentais na realização deste trabalho.

Ao Prof. Dr. Angelo Pedro Jacomino pela consideração, amizade e por disponibilizar a infraestrutura e equipamentos de seu laboratório.

À Prof. Dra. Beatriz Appezzato-da-Glória e a técnica de laboratório Marli Kasue Misaki Soares pelo auxílio nas análises anatômicas.

À Prof. Dra. Solange Guidolin Canniatti Brazaca e a técnica de laboratório Debora Niero Mansi pela prontidão e gentileza nas análises bioquímicas.

À técnica de laboratório Maria Regina Santos Rodeiro Peçanha pela ajuda nas análises de tanino.

À Prof. Dra. Giuseppina Pace Pereira Lima pela consideração e pelas vezes em que me auxiliou.

A todos os estagiários do laboratório sempre muito prestativos e atenciosos.

À técnica do Laboratório de Fisiologia e Bioquímica Pós-Colheita, Graça, pela amizade e ajuda em todas as situações.

Aos alunos de pós-graduação do laboratório pela agradável convivência e prontidão em ajudar.

Às amigas Pri, Dani e Mari, pela amizade e companheirismo.

Ao técnico Marcos José Trevisan pela ajuda nos experimentos.

À Luciane, secretária do PPG em Fitotecnia, pelas inúmeras vezes que me auxiliou.

À bibliotecária Silvia, da Divisão de Biblioteca e Documentação da Esalq pela atenção dedicada durante a revisão da dissertação.

A todos, que de alguma forma contribuíram para a realização desse trabalho.

SUMÁRIO

RESUMO	7
ABSTRACT	8
1 INTRODUÇÃO	9
Referências	11
2 AVALIAÇÃO DE BIORREGULADORES NA QUALIDADE DE BETERRABA MINIMAMENTE PROCESSADA E INTEIRA	12
Resumo	12
Abstract.....	13
2.1 Introdução	14
2.2 Desenvolvimento	15
2.2.1 Revisão Bibliográfica	15
2.2.2 Material e Métodos	17
2.2.3 Resultados e Discussão.....	22
2.3 Considerações Finais	39
Referências	40
3 ALTERAÇÕES NO METABOLISMO SECUNDÁRIO DE BETERRABAS MINIMAMENTE PROCESSADAS E INTEIRAS SUBMETIDAS A TRATAMENTOS PÓS- COLHEITA	43
Resumo	43
Abstract.....	44
3.1 Introdução	45
3.2 Desenvolvimento	46
3.2.1 Revisão Bibliográfica	46
3.2.2 Material e Métodos	49
3.2.3 Resultados e Discussão.....	53
3.3 Considerações Finais	62
Referências	63
ANEXOS	66

RESUMO

Respostas fisiológicas, bioquímicas e microbiológicas de beterrabas minimamente processadas e inteiras submetidas a tratamentos pós-colheita

O presente trabalho teve como objetivo avaliar os aspectos fisiológicos, bioquímicos e microbiológicos de beterrabas 'Early Wonder' minimamente processadas e inteiras submetidas a tratamentos pós-colheita. Para os tratamentos, os seguintes produtos foram aplicados: etileno ($1000\mu\text{L L}^{-1}$), 1-MCP (300nL L^{-1}) e ácido salicílico (500mg L^{-1}), além do controle sem tratamento. Após os tratamentos, o produto foi armazenado a 5°C durante 10 dias. Observou-se que o ácido salicílico, promoveu a diminuição nos teores de sólidos solúveis, pH e na taxa respiratória de beterrabas minimamente processadas. Além disso, verificou-se que a fisiologia de beterraba minimamente processada é diferente de beterraba inteira, que foi comprovada ao analisar a taxa respiratória e a produção de etileno, as quais foram significativamente maiores no produto minimamente processado. As contagens de bactérias psicrótroficas e coliformes totais, para beterraba minimamente processada mantiveram-se dentro dos limites aceitáveis durante 10 dias de armazenamento. Não foi detectada presença de coliformes a 45°C e *Salmonella*. Ficou evidenciada a eficiência do armazenamento a 5°C no controle da atividade metabólica e segurança de beterrabas minimamente processadas. As injúrias causadas durante o processamento mínimo induziram o aumento na atividade da fenilalanina amônia-liase. Entretanto, a aplicação de ácido salicílico diminuiu a atividade desta enzima. Os tratamentos aplicados nas beterrabas minimamente processadas e inteiras pouco influenciaram na concentração de betalaínas e de fenóis totais. Verificou-se que, em tecidos de beterrabas 'Early wonder', não houve qualquer indício de adstringência provocada por tanino.

Palavras-chave: *Beta vulgaris* L.; Processamento mínimo; Etileno; 1-metilciclopropeno; Ácido salicílico

ABSTRACT

Physiological, biochemical and microbiological responses of minimally processed and whole beet roots submitted to postharvest treatments

The purpose of the present work was to evaluate physiological, biochemical and, microbiological aspects of 'Early Wonder' whole and minimally processed beet roots submitted to different treatments. The following treatments were applied: ethylene ($1000\mu\text{L L}^{-1}$), 1-MCP (300nL L^{-1}) and, salicylic acid (500mg L^{-1}). After treatments, beet roots were stored at 5°C during 10 days. It was observed that salicylic acid promoted decrease of soluble solids, pH and, respiratory rates of minimally processed beet roots. It was also noted differences between whole and minimally processed beet roots physiology. This difference was observed by the high values of respiratory and ethylene production rates in the minimally processed beet roots. Psychrotrophic bacteria and total coliforms count for minimally processed beet roots were within acceptable limits for 10 days of storage. The presence of coliforms at 45°C and *Salmonella* was not detected. Storage at 5°C was effective to control the metabolic activity and to keep food safety of minimally processed beet roots. The injuries occurred during the minimal processing induced the increase of phenylalanine ammonia-lyase activity. However, the use of salicylic acid decreased the activity of this enzyme. The treatments applied on whole and minimally processed beet roots have little influence on betalains and total phenol concentration. It was not detected astringency on beet roots 'Early wonder' tissues.

Keywords: *Beta vulgaris* L.; Minimal processing; Ethylene; 1-methylcyclopropene; Salicylic acid

1 INTRODUÇÃO

O processamento mínimo, usualmente, descreve um produto fresco, adequadamente descascado, fatiado ou cortado, pronto para o preparo ou consumo, contrastando com as técnicas de processamento convencionais, as quais incluem, entre outros, o congelamento, o enlatamento e a secagem (BOLIN; HUXSOLL, 1989).

A fisiologia dos produtos hortícolas minimamente processados é semelhante à fisiologia de tecidos vegetais que sofreram injúrias. As operações como descascamento, corte e centrifugação, comuns durante o processamento mínimo, provocam uma série de injúrias nos tecidos. Assim, o comportamento destes produtos é semelhante ao que ocorre em tecidos de plantas submetidas às condições de estresses, incluindo o aumento na respiração e produção de etileno, estímulo à formação de metabólitos secundários de defesa e aumento na proliferação de microorganismos patogênicos. Outras conseqüências da injúria são de natureza química e física, como escurecimento enzimático, oxidação de lipídios ou aumento na perda de água. O aparecimento de novos RNAs e proteínas nos tecidos injuriados estabelecem evidências para o controle genômico da resposta (BRECHT, 1995).

Devido às injúrias do processamento e às alterações fisiológicas e bioquímicas, os produtos minimamente processados apresentam rápida deterioração e senescência quando comparado ao mesmo produto, porém não processado, ou seja, inteiro.

A minimização das conseqüências negativas das injúrias sofridas pelos produtos minimamente processados pode resultar em incremento na vida útil e promover uma maior manutenção das qualidades nutricionais e sensoriais dos mesmos. Entretanto, para reduzir as conseqüências indesejáveis no processamento mínimo são necessários conhecimentos básicos a cerca do metabolismo que controla as principais alterações fisiológicas e bioquímicas, que uma vez conhecidas podem fornecer subsídios para o desenvolvimento de tecnologias de conservação pós-colheita mais apropriadas e seguras.

O estímulo à produção de etileno provocado pelas injúrias do processamento mínimo tem também como conseqüência a ativação do metabolismo fenilpropanóide dos vegetais, em função principalmente do aumento na atividade de enzimas deste metabolismo, sobretudo da fenilalanina amônia-liase (PAL). A PAL está situada em um ponto de ramificação entre os metabolismos primário e secundário, de forma que a reação que ela catalisa é uma etapa reguladora importante na formação de muitos compostos fenólicos.

Várias substâncias são produzidas durante o metabolismo secundário de frutas e hortaliças, incluindo um grande número de compostos fenólicos. Todos os metabólitos secundários, embora não diretamente relacionados ao crescimento e desenvolvimento do vegetal, apresentam funções principalmente de defesa contra herbivoria e patógenos, além de características desejáveis para a disseminação e perpetuação de espécies.

Tem sido verificado que muitos dos compostos secundários podem ser tanto prejudiciais quanto benéficos à saúde humana. Neste último caso temos o exemplo das betalaínas, que são pigmentos encontrados na beterraba, formados durante o metabolismo secundário, e pertencente ao grupo dos compostos secundários nitrogenados. As betalaínas vêm sendo relatadas como potentes agentes antioxidantes, podendo ser utilizado para prevenir alguns tipos de cânceres. Adicionalmente, a presença de tanino, outro metabólito secundário (este pertencente ao grupo dos compostos fenólicos) pode ser apreciada em alguns alimentos, mas pode ser inconveniente em alimentos infantis, pois pode prejudicar a absorção de ferro. O ferro é vital para a formação da hemoglobina, o pigmento vermelho dos glóbulos vermelhos (hemácias) do sangue. Existe uma crença popular que a ingestão de suco da beterraba pode prevenir ou reduzir a anemia. Isso não é verdadeiro, considerando a quantidade de ferro na raiz da beterraba, 0,8 a 1,0mg/100g, segundo dados levantados na FAO.

Em produtos minimamente processados pouco se conhece sobre as alterações no metabolismo secundário decorrentes da injúria do processamento, sendo que os estudos a cerca do etileno, atividade da PAL e metabolismo dos taninos e betalaínas podem contribuir para uma melhor caracterização nutricional destes alimentos bem como para o desenvolvimento de técnicas de pós-colheita que permitam a manutenção das qualidades nutricionais. Adicionalmente, informações a respeito dos teores de tanino em beterraba não têm sido encontradas na literatura e, atualmente, por meio de metodologias de determinação mais apropriadas, pode-se mensurar a quantidade destes compostos, além do seu metabolismo decorrente do processamento mínimo.

O objetivo geral do trabalho foi verificar algumas respostas fisiológicas, bioquímicas e microbiológicas de beterrabas minimamente processadas e inteiras submetidas a tratamentos pós-colheita com biorreguladores. Para atingir este objetivo foram propostos os seguintes objetivos específicos:

- Avaliar as características físico-químicas e microbiológicas do produto, em função dos tratamentos aplicados.

- Verificar possíveis alterações no metabolismo secundário de beterrabas minimamente processadas e inteiras submetidas a diferentes tratamentos pós-colheita, incluindo mudanças na atividade da fenilalanina amônia-liase e possíveis alterações nos metabólitos secundários, incluindo a produção de taninos e o metabolismo das betalaínas.

Referências

BOLIN, H.R.; HUXSOLL, C.C. Storage stability of minimally processed fruit. **Journal of Food Processing and Preservation**, Trumbull, v.13, p.281-292, 1989.

BRECHT, J.K. Physiology of lightly processed fruits and vegetables. **HortScience**, Alexandria, v.30, n.1, p.18-22, 1995.

2 AVALIAÇÃO DE BIORREGULADORES NA QUALIDADE DE BETERRABA MINIMAMENTE PROCESSADA E INTEIRA

Resumo

O presente trabalho teve como objetivo verificar o efeito de biorreguladores nas características físico-químicas, fisiologia e microbiologia de beterraba minimamente processada e inteira. Para o processamento mínimo, as raízes foram selecionadas quanto à firmeza, cor e tamanho, descascadas, sanificadas, sendo em seguida cortadas em retalhos (2mm de espessura), enxaguadas e centrifugadas. Os tratamentos aplicados foram: etileno (1000 μ L L⁻¹), 1-MCP (300nL L⁻¹) e ácido salicílico (500mg L⁻¹). Após os tratamentos, as beterrabas foram armazenadas a 5°C durante 10 dias. As seguintes variáveis foram analisadas: perda de massa, cor, sólidos solúveis, pH, acidez titulável, atividade respiratória e produção de etileno. Para a microbiologia foram analisadas as contagens de bactérias psicotróficas, coliformes totais, coliformes a 45°C e presença de *Salmonella*. Observou-se que a baixa temperatura de armazenamento associada ao ácido salicílico promoveu a diminuição nos teores de sólidos solúveis, pH e na taxa respiratória de beterrabas minimamente processadas. Além disso, verificou-se que a fisiologia de beterraba minimamente processada é diferente de beterraba inteira, que foi comprovada ao analisar a taxa respiratória e a produção de etileno, as quais foram significativamente maiores no produto minimamente processado. As contagens de bactérias psicotróficas e coliformes totais, para beterraba minimamente processada mantiveram-se dentro dos limites aceitáveis durante 10 dias de armazenamento. Não foi detectada presença de coliformes a 45°C e *Salmonella*. Ficou evidenciada a eficiência do armazenamento a 5°C no controle da atividade metabólica e segurança de beterrabas minimamente processadas.

Palavras-chave: *Beta vulgaris* L.; Processamento mínimo; Ácido salicílico; Etileno; Respiração

2 EVALUATION OF BIOREGULATORS ON QUALITY OF MINIMALLY PROCESSED AND WHOLE BEET ROOT

Abstract

The purpose of the present work was to evaluate the effects of application of bioregulators on physical-chemical characteristics, physiology and microbiology of minimally processed and whole beet root. For the minimal processing, beet roots were graded for firmness, color and size, and were peeled. Roots were then sanitized, shredded (2mm thick), rinsed and centrifuged. The following treatments were applied: ethylene ($1000\mu\text{L L}^{-1}$), 1-MCP (300nL L^{-1}) and, salicylic acid (500mg L^{-1}). After treatments, beet roots were stored at 5°C during 10 days. The following analyses were carried out: weight loss, color, soluble solids, pH, titratable acidity, respiration and ethylene production. To microbiological analysis psychrotrophic bacteria and total coliforms counts, and coliforms at 45°C and *Salmonella* were evaluated. It was observed that low temperature associated to salicylic acid use promoted the decrease of soluble solids, pH and respiratory rates of minimally processed beet roots. It was also noted difference between whole and minimally processed beet roots physiology. This difference was observed by the high values of respiratory and ethylene production rates in the minimally processed beet roots. Psychrotrophic bacteria and total coliforms count for minimally processed beet roots were within acceptable limits for ten days of storage. The presence of coliforms at 45°C and *Salmonella* was not detected. Storage at 5°C was effective to control the metabolic activity and to keep food safety of minimally processed beet roots.

Keywords: *Beta vulgaris* L.; Minimal processing; Salicylic acid; Ethylene; Respiration

2.1 Introdução

A procura por produtos minimamente processados continua crescente na maioria dos países. Fatores como conveniência, praticidade, frescor e saúde, dentre outros, ainda se constituem na mola propulsora que tem levado consumidores a buscar saladas prontas para o consumo (MORETTI, 2008).

Frutas e hortaliças minimamente processadas são em essência órgãos vegetais que passaram por alterações físicas, isto é, foram descascados, picados, torneados e ralados, dentre outros processos, mas que permaneceram no estado fresco e metabolicamente ativos (MORETTI; MACHADO, 2006).

O conhecimento existente até o momento no que tange à fisiologia e aos requerimentos de manuseio pós-colheita indica que produtos minimamente processados se comportam de maneira distinta e, portanto, devem ser manuseados de maneira diferente das frutas e hortaliças inteiras. Estes produtos são mais perecíveis que os inteiros, considerando que são submetidos a severos estresses físicos, advindos, principalmente, do descascamento e do corte. Esses danos mecânicos aumentam o metabolismo e, conseqüentemente, o processo de senescência (BRECHT, 1995; WILEY, 1994).

Mesmo os órgãos de reserva, como raízes, bulbos, rizomas e tubérculos, que naturalmente possuem uma vida pós-colheita relativamente longa, quando submetidos ao processamento mínimo, passam a ser altamente perecíveis, com uma vida de prateleira muito curta (KASMIRE; CANTWELL, 1992).

O uso de baixas temperaturas de armazenamento, quando associado à tecnologia de embalagens, é eficaz no controle dos processos metabólicos e diminui a disseminação de bactérias e fungos em hortaliças minimamente processadas.

O conhecimento acumulado sobre a fisiologia e o manuseio de frutas e hortaliças inteiras deve ser reexaminado, além de que novos estudos devem ser desenvolvidos enfocando compostos de importância funcional, bem como alterações que ocorrem na fisiologia de vegetais minimamente processados. Assim, o objetivo deste trabalho foi avaliar as características fisiológicas e os aspectos microbiológicos, bem como a qualidade de beterrabas minimamente processadas e inteiras submetidas a tratamentos pós-colheita e armazenadas sob refrigeração.

2.2 Desenvolvimento

2.2.1 Revisão Bibliográfica

A conservação de hortaliças minimamente processadas é um processo especialmente complexo, do qual participam células vegetais danificadas, intactas e inativadas. Em outras palavras, enquanto algumas células respiram em velocidade normal, outras danificadas respiram a velocidades maiores (ROLLE; CHISM, 1987).

O efeito do corte e outras injúrias, provocadas durante as etapas do processamento mínimo, tem como consequência o rompimento de organelas, modificação da permeabilidade das membranas, desorganização celular, ativação da síntese do etileno e aumento na respiração (CHITARRA; CHITARRA, 2005).

Estresses mecânicos podem também comprometer o aroma, o sabor e a produção de compostos voláteis (MORETTI et al., 2002a). O estresse torna os tecidos vegetais mais suscetíveis ao ataque de microorganismos patogênicos e, possivelmente, mais propícios à sobrevivência e ao crescimento de microorganismos que potencialmente podem fazer mal à saúde (WELLS; BUTTERFIELD, 1999). Esse fato não ocorre com as frutas e hortaliças inteiras, que são parcialmente protegidas da invasão microbiana pela casca (SHEWFELT, 1987).

Um grande número de microorganismos tem sido encontrado em produtos minimamente processados, incluindo microbiotas mesofílicas e pectinolíticas, coliformes, coliformes fecais, bolores, entre outros. O controle da temperatura de armazenamento, a desinfecção química e o uso de atmosfera modificada diminuem consideravelmente o desenvolvimento desses microorganismos (NGUYEN; CARLIN, 1994).

As taxas respiratórias de produtos minimamente processados são geralmente, mais altas que as encontradas em frutas e hortaliças inteiras. O controle da produção de CO₂ pode ser usado para prolongar a vida de prateleira de produtos minimamente processados, o que obriga a sua comercialização sob refrigeração (WATADA; KO; MINOTT, 1996). Segundo Brecht (1995) a taxa respiratória e a produção de etileno, bem como outras reações associadas ao processamento, são reduzidas quando o produto é preparado sob baixas temperaturas.

No caso da beterraba minimamente processada, como em várias outras hortaliças processadas, o armazenamento refrigerado associado à tecnologia de embalagens não são suficientes para prolongar, por um longo período, a conservação pós-colheita. Desta forma, há

necessidade de realizar tratamentos complementares à refrigeração que minimizem os efeitos das injúrias provocadas pelo processamento mínimo.

Um composto naturalmente produzido pelas plantas e utilizado em tratamentos de pós-colheita é o ácido salicílico. O ácido salicílico é um composto fenólico natural que está envolvido em vários processos do crescimento e desenvolvimento da planta, incluindo o amadurecimento e a senescência do fruto. Pode também reduzir a concentração de radicais livres e diminuir a atividade de enzimas como a PAL, a qual é, por sua vez, relacionada à indução do acúmulo de compostos fenólicos e outros metabólitos secundários (ZHANG et al., 2003). O ácido salicílico está também relacionado à: a) redução da atividade da enzima ACC oxidase (relacionada com a rota metabólica de produção de etileno); b) indução de defesa da planta contra estresse biótico (infecção por vírus, bactérias, fungos, etc.) e abiótico (altas e baixas temperaturas, injúrias mecânicas, etc.).

Outro método de estender o período de armazenamento de produtos minimamente processados é o controle de produção e ação do etileno. Embora a maioria das hortaliças produza quantidades baixas de etileno, são muito sensíveis às exposições de etileno exógeno. O principal efeito deste fitohormônio nesses produtos é a indução de aumento da atividade respiratória, o que acelera a atividade metabólica e antecipa a senescência (CHITARRA; CHITARRA, 2005). Já a aplicação de 1-MCP retarda o aparecimento desses sintomas, aumentando o tempo de armazenamento dos frutos, mantendo a qualidade desejada pelo consumidor. O 1-MCP também diminui a atividade da PAL, provocando uma menor produção dos compostos fenólicos (WATKINS, 2006).

Portanto, o armazenamento refrigerado e a aplicação de ácido salicílico e 1-MCP, podem manter a qualidade do produto, possibilitando o armazenamento da beterraba minimamente processada por um maior período de tempo. Entretanto, não só o conhecimento dos efeitos dos tratamentos é importante, mas também a viabilidade prática e econômica da técnica que, uma vez estabelecida, podem tornar o tratamento aplicável em nível comercial para as nossas condições.

2.2.2 Material e Métodos

Obtenção do material experimental

Beterrabas cv. Early Wonder foram colhidas na região de São José do Rio Preto, SP, e transportadas ao laboratório de Fisiologia e Bioquímica Pós-colheita do Departamento de Ciências Biológicas da USP/ESALQ, em Piracicaba, onde sofreram uma seleção quanto ao tamanho e ausência de injúrias mecânicas e patológicas. As beterrabas foram pré-lavadas em água corrente com o objetivo de retirar as impurezas advindas do campo.

Processamento mínimo

O preparo do produto minimamente processado foi realizado sob condições refrigeradas (10°C), sobre mesa de aço inoxidável, devidamente higienizada. Os operadores utilizaram roupas protetoras (botas, aventais, luvas, máscaras e toucas), como parte das condições mínimas de assepsia.

As etapas de processamento constaram de:

a) Resfriamento rápido: as raízes foram imersas em água resfriada (5°C) por 2 minutos para reduzir a atividade metabólica antes do processamento.

b) Descascamento: as beterrabas foram descascadas mecanicamente utilizando-se uma descascadora industrial (Shymssen) com disco abrasivo para retirada da película externa das raízes.

c) Sanificação: as raízes foram tratadas por 3 minutos em água clorada (200ppm de Dicloro-S-Triazinatriona Sódica Diidratada - SUMAVEG®), com o objetivo de reduzir riscos de contaminação.

d) Corte: foram submetidas ao corte em forma de retalhos (espessura 2mm), utilizando-se uma processadora industrial (Robot Coupe).

e) Enxágüe: após o corte, o material foi enxaguado em água potável por 1 minuto para a retirada do excesso de cloro.

f) Centrifugação: foram centrifugadas em centrífuga doméstica durante 20 segundos para a retirada do excesso de umidade presente no produto, com velocidade constante equivalente a 800 xg.

g) Pesagem e Embalagem: foram confeccionadas embalagens de 200g de beterraba minimamente processada. O produto foi colocado em bandejas de poliestireno expandido, nas dimensões 14x20cm de largura e comprimento, respectivamente, envolvidas por filme de policloreto de vinila (PVC), com 14 micras de espessura.

Tratamentos

Foram utilizadas tanto beterrabas minimamente processadas quanto inteiras para a aplicação dos tratamentos com etileno, 1-MCP e ácido salicílico, além do controle.

Para a aplicação de etileno, as beterrabas foram colocadas em caixas herméticas, com volume de $0,19\text{m}^3$ durante 24 horas. O etileno ($1000\mu\text{L L}^{-1}$) foi aplicado injetando-se gás azetil (contendo 5% de etileno) no interior da caixa hermética, através de um septo de silicone.

Para a aplicação de 1-MCP, na concentração de 300nL L^{-1} , foram utilizadas 0,089g do produto comercial SmartFresh, o qual foi dissolvido em 20mL de água a 50°C em frasco hermeticamente fechado. Após completa dissolução do produto, o frasco foi aberto no interior da caixa para a liberação do gás. A duração deste tratamento foi de 12 horas.

O ácido salicílico foi aplicado na forma de imersão do produto, durante 5 minutos, em uma solução contendo 500mg L^{-1} de ácido salicílico.

O produto foi armazenado a $5\pm 1^\circ\text{C}$ e umidade relativa (UR) de $85\pm 5\%$ durante 10 dias, sendo avaliado a cada 2 dias. Foram realizadas análises no dia 0 para caracterização inicial do material.

Delineamento experimental

Nas análises físico-químicas, tanto para beterraba inteira quanto minimamente processada, o delineamento experimental utilizado foi inteiramente ao acaso, em esquema fatorial 4×6 , onde os fatores estudados foram: tratamento (em quatro níveis) e tempo de armazenamento (em seis níveis). O esquema fatorial utilizado na produção de etileno e taxa respiratória foi 4×11 , tendo, como fatores, tratamentos (em 4 níveis) e tempo de armazenamento (em 11 níveis). Foram utilizadas quatro repetições por tratamento, sendo que cada parcela foi composta por 200 gramas de beterraba minimamente processada ou inteira.

Determinações

Perda de massa

Determinada por diferença, em %, entre a massa inicial e final da repetição.

Teor de sólidos solúveis

Após a trituração da amostra em multiprocessador doméstico, uma gota do suco proveniente da trituração da amostra foi colocada em um refratômetro digital (Atago). Os resultados foram expressos em °Brix.

pH

Dez gramas da amostra triturada foram colocadas em 90mL de água destilada. A determinação do pH foi realizada por meio de um pHmetro (Tecnal).

Acidez titulável

Para a determinação da acidez titulável, 10g da amostra triturada foi colocada em 90mL de água destilada. Foi efetuada titulação potenciométrica com NaOH 0,1N até pH 8,10. Os resultados foram expressos em cmol L^{-1} .

Cor

A cor foi determinada com um colorímetro (Minolta), determinando-se os valores de L (luminosidade), a^* , b^* , sendo estes dados transformados em C (cromaticidade) e h° (ângulo de cor). As leituras foram realizadas diretamente sobre o produto.

Produção de etileno

As beterrabas minimamente processadas e inteiras foram acondicionadas em frascos herméticos de vidro, com tampa de metal e septo de silicone, com capacidade para 600 e 1700mL, respectivamente. Foram utilizadas seis repetições por tratamento. Os frascos permaneceram fechados durante 2 horas a 5°C e, ao final deste período, foi coletada, através do septo, uma alíquota de 0,5 mL de gás do interior dos frascos, utilizando-se uma seringa modelo Gastight, marca Hamilton. As amostras coletadas foram injetadas em cromatógrafo a gás (modelo Trace

GC Ultra, marca Thermo), com detector de ionização de chama (FID) e coluna “Propak N”. O gás de arraste foi o hidrogênio, a um fluxo de 30mL/minuto. As temperaturas mantidas no aparelho foram 100°C para a coluna, 140°C no injetor, 180°C no detector e 350°C no metanador. Os resultados foram expressos em $\mu\text{L C}_2\text{H}_4 \text{ kg}^{-1} \text{ h}^{-1}$.

Taxa respiratória

Foram utilizados os mesmos procedimentos adotados para a determinação de etileno. As temperaturas mantidas no aparelho foram 100°C para a coluna, 100°C no injetor, 250°C no detector e 350°C no metanador. Os resultados foram expressos em $\text{mL CO}_2 \text{ kg}^{-1} \text{ h}^{-1}$.

Análises microbiológicas

A microbiota contaminante foi avaliada pela contagem total de bactérias psicrotróficas, NMP de coliformes totais e fecais e presença/ausência de *Salmonella*. Coliformes e bactérias psicrotróficas foram determinados no dia do processamento e após 5 e 10 dias de armazenamento. *Salmonella* foi determinada no dia do processamento e no 10º dia de armazenamento. As análises para contagem de bactérias psicrotróficas, segundo a metodologia convencional (PCA) e para o NMP de coliformes, segundo a técnica de Tubos Múltiplos, foram realizadas conforme Silva et al. (2001). Na determinação da presença/ausência de *Salmonella* foi empregada o Kit rápido ‘1-2 test’, fabricado pela BioControl/USA.

- Contagem total de bactérias psicrotróficas

Para contagem de bactérias psicrotróficas utilizou-se o meio Agar Padrão para Contagem (PCA).

A partir da diluição 10^{-1} até a 10^{-4} das beterrabas minimamente processadas e inteiras, foram plaqueadas em profundidade, 1mL de cada diluição em duplicata, utilizando-se 20mL de meio de cultivo PCA. Após o plaqueamento, as placas permaneceram em repouso até completa solidificação do meio, sendo, então invertidas e incubadas a 7°C por 10 dias.

Decorrido o tempo de incubação foram selecionadas as placas e fez-se a contagem das mesmas, com auxílio do contador de colônias do tipo Quebec.

- NMP (Número Mais Provável) de coliformes totais e fecais

Coliformes foram determinados pelo método do NMP, por meio da técnica dos Tubos Múltiplos. Para o teste presuntivo foram utilizadas séries de 3 tubos de ensaio para cada diluição

(10^{-2} , 10^{-3} e 10^{-4}), os quais continham um tubo de Durham e caldo lauril (LST) em concentração simples. Adicionou-se 1mL de cada diluição nas referidas séries de 3 tubos.

Todos os tubos foram incubados em estufa termostatzada a 35-37°C, por 24-48h de incubação. A possível presença de tubos positivos é observada pelo esvaziamento dos tubos de Durham, devido à produção de gás pelas bactérias do grupo coliforme ao fermentarem a lactose.

Caso houvesse tubos positivos no teste presuntivo, ou seja, esvaziamento do tubo de Durham, alíquotas destes tubos deveriam ser inoculadas em tubos com caldo verde brilhante lactose bile (CVBLB) e em tubos com caldo EC. Os tubos CVBLB deveriam ser incubados a 35-37°C / 24-48h para o teste confirmativo de coliformes totais e os tubos EC em banho-maria a 45°C / 24h para o teste confirmativo de coliformes fecais.

- Detecção de *Salmonella*

Para detecção de *Salmonella* utilizou-se o Kit '1-2 test', fabricado pela BioControl/USA. Foi feito um pré-enriquecimento de cada amostra analisada, triturando-se 25g de hortaliça em 225mL de água peptonada tamponada esterilizada, em liquidificador esterilizado. Após a homogeneização, foi feita, assepticamente, a transferência para os frascos erlenmeyers originais (que continham os 225mL de água peptonada tamponada). Tais frascos foram incubados em estufa termostatzada, a 35°C por 24 horas. Decorrido o tempo de incubação fez-se o preparo dos kits, inoculando 0,1mL da amostra. Incubaram-se os kits a 35°C por 24h. Após a incubação foi feita a leitura dos resultados. A possível presença de *Salmonella* foi caracterizada pela formação de uma imunobanda na metade superior do gel. Trata-se de uma banda branca que apresenta forma de U formada pela aglutinação das células da bactéria.

Análise dos resultados

Os resultados das análises físico-químicas foram submetidos à análise de variância e as médias foram comparadas pelo teste da diferença mínima significativa ($p \leq 0,05$), em que as diferenças entre dois tratamentos maior que a soma de dois erros padrões foram consideradas significativas (MORETTI et al., 2002b). Na avaliação dos aspectos microbiológicos os resultados foram expressos em UFC g⁻¹ de produto para bactérias psicrotróficas, NMP g⁻¹ para coliformes totais e fecais e presença/ausência de *Salmonella* em 25g de produto.

2.2.3 Resultados e Discussão

Perda de massa

A perda de massa, tanto para beterrabas minimamente processadas quanto inteiras, atingiu valores de, no máximo, 2% ao final de 10 dias de armazenamento, sendo que na maior parte do armazenamento as perdas variaram de aproximadamente 0,5 a 1% (Figuras 1 e 2). Resultados semelhantes foram observados por Osornio e Chaves (1998) e Pinto et al. (2008), os quais também verificaram perdas na ordem de 1% em beterrabas minimamente processadas e mantidas sob refrigeração.

Kluge et al. (2006) observaram baixa perda de massa em beterrabas minimamente processadas atingindo, no máximo, 0,7% de perda, ao longo do armazenamento refrigerado.

A perda de massa é decorrente, principalmente, da transpiração do produto em função do déficit de pressão de vapor (DPV) entre os tecidos internos e o ambiente. Fatores como baixa temperatura e alta umidade relativa reduzem o DPV e, conseqüentemente, a perda de água do produto. Assim, as perdas de massa observadas no presente trabalho são consideradas baixas, uma vez que não foi verificado murchamento visível.

Figura 1 - Perda de massa de beterrabas minimamente processadas submetidas a tratamentos pós-colheita e armazenadas durante 10 dias a $5\pm 1^{\circ}\text{C}$ e $85\pm 5\%$ UR. Barras verticais representam erro padrão da média ($n=4$)

Figura 2 - Perda de massa de beterrabas inteiras submetidas a tratamentos pós-colheita e armazenadas durante 10 dias a $5\pm 1^{\circ}\text{C}$ e $85\pm 5\%$ UR. Barras verticais representam erro padrão da média ($n=4$)

Sólidos solúveis

Baixas temperaturas durante o armazenamento retardam o metabolismo do vegetal devido à diminuição de sua taxa respiratória, evitando reduções drásticas nos teores de sólidos solúveis (CHITARRA; CHITARRA, 2005). Pode-se observar na Figura 3 que as beterrabas minimamente processadas sem tratamento e aquelas tratadas com 1-MCP e etileno não apresentaram variação significativa nos teores de sólidos solúveis durante o período de armazenamento. Em contrapartida, a aplicação de ácido salicílico reduziu os teores de sólidos solúveis. Nas beterrabas inteiras não houve diferença para o teor de sólidos solúveis entre os tratamentos (Figura 4). Comparando-se as Figuras 3 e 4 nota-se que os valores de sólidos solúveis foram menores para as beterrabas minimamente processadas, atingindo valores entre $5,5$ e $7,3^{\circ}\text{Brix}$, enquanto nas inteiras os valores oscilaram entre 9 e 11°Brix . O efeito do ácido salicílico na redução do teor de sólidos solúveis deve ser melhor entendido. É possível que essa redução seja devido ao maior tempo de contato das superfícies de corte das raízes com a solução de ácido salicílico, o que fez extravazar mais conteúdos celulares, incluindo os carboidratos solúveis.

Vitti et al. (2003) verificaram que a variação no teor de sólidos solúveis de beterrabas minimamente processadas com espessuras de cortes de 2 e 5 mm foi de $2,5$ a $3,5^{\circ}\text{Brix}$.

Figura 3 - Teores de sólidos solúveis (°Brix) de beterrabas minimamente processadas submetidas a tratamentos pós-colheita e armazenadas durante 10 dias a $5\pm 1^{\circ}\text{C}$ e $85\pm 5\%$ UR. Barras verticais representam erro padrão da média ($n=4$)

Figura 4 - Teores de sólidos solúveis (°Brix) de beterrabas inteiras submetidas a tratamentos pós-colheita e armazenadas durante 10 dias a $5\pm 1^{\circ}\text{C}$ e $85\pm 5\%$ UR. Barras verticais representam erro padrão da média ($n=4$)

Acidez titulável e pH

Houve pouca variação na acidez titulável ao longo do período de armazenamento (Figuras 5 e 6). As beterrabas minimamente processadas tratadas com ácido salicílico apresentaram valores mais baixos de pH, comparados aos demais tratamentos (Figura 7). Para as beterrabas inteiras não houve variação significativa no pH ao final do período de armazenamento (Figura 8).

Pinto et al. (2008) também observaram pouca variação nos teores de acidez titulável ao longo do período de armazenamento refrigerado de beterraba minimamente processada em diferentes tipos de cortes.

Beterrabas minimamente processadas embaladas em filme de policloreto de vinila (PVC) não exibiram variação nos valores de pH durante o armazenamento refrigerado (OSORNIO; CHAVES, 1998). Por outro lado, Gómez-López et al. (2007) verificaram um pequeno decréscimo nos valores de pH em cenouras minimamente processadas tratadas com dióxido de cloro gasoso em armazenamento refrigerado durante 9 dias.

Figura 5 - Valores de acidez titulável (cmol L^{-1}) de beterrabas minimamente processadas submetidas a tratamentos pós-colheita e armazenadas durante 10 dias a $5\pm 1^\circ\text{C}$ e $85\pm 5\%$ UR. Barras verticais representam erro padrão da média ($n=4$)

Figura 6 - Valores de acidez titulável (cmol L^{-1}) de beterrabas inteiras submetidas a tratamentos pós-colheita e armazenadas durante 10 dias a $5 \pm 1^\circ\text{C}$ e $85 \pm 5\%$ UR. Barras verticais representam erro padrão da média ($n=4$)

Figura 7 - Valores de pH de beterrabas minimamente processadas submetidas a tratamentos pós-colheita e armazenadas durante 10 dias a $5 \pm 1^\circ\text{C}$ e $85 \pm 5\%$ UR. Barras verticais representam erro padrão da média ($n=4$)

Figura 8 - Valores de pH de beterrabas inteiras submetidas a tratamentos pós-colheita e armazenadas durante 10 dias a $5\pm 1^{\circ}\text{C}$ e $85\pm 5\%$ UR. Barras verticais representam erro padrão da média ($n=4$)

Coloração

As beterrabas minimamente processadas apresentaram redução nos valores de L após dois dias de armazenamento, mantendo-se constantes até o final do armazenamento (Figura 9). A luminosidade das beterrabas inteiras permaneceu inalterada durante os 10 dias de armazenamento (Figura 10). A ausência de esbranquiçamento das raízes de beterrabas minimamente processadas pode ser explicada pela estabilidade nos valores de L ao longo do período de armazenamento a 5°C .

Aumentos nos valores de L podem representar o aparecimento de esbranquiçamento dos tecidos (denominado “white blush”), o que torna o produto com aparência envelhecida e não atraente. Simões et al. (2008) concluiu que o esbranquiçamento que ocorre em mini-cenouras é resultado da desidratação das células superficiais danificadas pelo pré-processamento e não pela formação de lignina na superfície dos cortes conforme sugerido por Bolin e Huxsoll (1991).

Figura 9 - Valores de Luminosidade (L) de beterrabas minimamente processadas submetidas a tratamentos pós-colheita e armazenadas durante 10 dias a $5\pm 1^{\circ}\text{C}$ e $85\pm 5\%$ UR. Barras verticais representam erro padrão da média ($n=4$)

Figura 10 - Valores de Luminosidade (L) de beterrabas inteiras submetidas a tratamentos pós-colheita e armazenadas durante 10 dias a $5\pm 1^{\circ}\text{C}$ e $85\pm 5\%$ UR. Barras verticais representam erro padrão da média ($n=4$)

As beterrabas minimamente processadas e inteiras mantiveram valores de intensidade de cor (cromaticidade) praticamente constantes durante o período de armazenamento (Figuras 11 e 12).

Figura 11 - Valores de Chroma (C^*) de beterrabas minimamente processadas submetidas a tratamentos pós-colheita e armazenadas durante 10 dias a $5\pm 1^\circ\text{C}$ e $85\pm 5\%$ UR. Barras verticais representam erro padrão da média ($n=4$)

Figura 12 - Valores de Chroma (C^*) de beterrabas inteiras submetidas a tratamentos pós-colheita e armazenadas durante 10 dias a $5\pm 1^\circ\text{C}$ e $85\pm 5\%$ UR. Barras verticais representam erro padrão da média ($n=4$)

Os ângulos de cor (h°) das beterrabas minimamente processadas apresentaram comportamento semelhante em função dos tratamentos, havendo uma pequena elevação nos valores durante o armazenamento (Figura 13). Mesmo com o aumento, os h° indicaram a cor vermelha predominante nas raízes minimamente processadas. As beterrabas inteiras mantiveram praticamente os valores de ângulo de cor parecidos e constantes durante o período de armazenamento (Figura 14).

Figura 13 - Valores de Hue (h°) de beterrabas minimamente processadas submetidas a tratamentos pós-colheita e armazenadas durante 10 dias a $5\pm 1^\circ\text{C}$ e $85\pm 5\%$ UR. Barras verticais representam erro padrão da média ($n=4$)

Figura 14 - Valores de Hue (h°) de beterrabas inteiras submetidas a tratamentos pós-colheita e armazenadas durante 10 dias a $5\pm 1^\circ\text{C}$ e $85\pm 5\%$ UR. Barras verticais representam erro padrão da média (n=4)

Taxa respiratória

A aplicação de ácido salicílico nas beterrabas minimamente processadas causou redução na taxa respiratória em comparação aos demais tratamentos, cujos resultados apresentaram uma tendência semelhante de elevação ao longo do armazenamento (5° e 6° dias) e redução em períodos posteriores (Figura 15). A redução na taxa respiratória provocada pelo ácido salicílico ainda precisa ser melhor esclarecida. É possível que o ácido salicílico tenha reduzido o pH citosólico e diminuído o ritmo da glicólise. Redução no pH com a aplicação de ácido salicílico foi observado no presente trabalho (Figura 7), e isso pode ter afetado as enzimas glicolíticas. Vitti (2003) observou redução na atividade respiratória de beterrabas minimamente processadas tratadas com ácido cítrico, outro aditivo que, semelhantemente ao ácido salicílico, é usado como conservante de alimentos.

Não houve efeito do ácido salicílico na atividade respiratória de beterrabas inteiras. Em contrapartida, houve diminuição da respiração em função da aplicação do 1-MCP (Figura 16).

Vitti et al. (2004) estudaram a taxa respiratória de beterrabas inteiras e minimamente processadas armazenadas a 5°C e observaram que imediatamente após o corte, a taxa respiratória sofreu incremento de aproximadamente seis vezes em relação às hortaliças inteiras.

Osornio e Chaves (1998) verificaram que a atividade respiratória de beterrabas raladas armazenadas a 0°C é mais alta quando comparada com a obtida em beterrabas inteiras.

Ficou constatado, ao avaliar a taxa respiratória, que os tecidos intactos e danificados respondem diferentemente, considerando os valores superiores das taxas observadas em beterrabas minimamente processadas em relação às inteiras. Devido ao fato de expor mais os tecidos ao ambiente, o processamento mínimo pode promover respostas diferentes a determinados tratamentos, o que foi observado com a aplicação de ácido salicílico.

Figura 15 - Taxa respiratória de beterrabas minimamente processadas submetidas a tratamentos pós-colheita e armazenadas durante 10 dias a $5\pm 1^{\circ}\text{C}$ e $85\pm 5\%$ UR. Barras verticais representam erro padrão da média ($n=6$)

Figura 16 - Taxa respiratória de beterrabas inteiras submetidas a tratamentos pós-colheita e armazenadas durante 10 dias a $5 \pm 1^\circ\text{C}$ e $85 \pm 5\%$ UR. Barras verticais representam erro padrão da média ($n=6$)

Produção de etileno

Nas beterrabas minimamente processadas e inteiras houve produção de etileno apenas no primeiro dia de armazenamento, caracterizado por um pico, sendo esse mais marcante nas beterrabas tratadas com etileno (Figuras 17 e 18).

Tecidos estressados ou danificados geralmente respondem por meio da biossíntese de etileno e aumentos na taxa respiratória (PURVIS, 1997), como forma de regularizar o metabolismo e/ou ativar vias para a produção de metabólitos cicatrizantes (SALTVEIT, 2003).

Etileno praticamente não é detectado em beterrabas inteiras, porém em beterrabas minimamente processadas é possível verificar produção de etileno, conforme anteriormente observado por Vitti (2003).

Figura 17 - Produção de etileno de beterrabas minimamente processadas submetidas a tratamentos pós-colheita e armazenadas durante 10 dias a $5\pm 1^{\circ}\text{C}$ e $85\pm 5\%$ UR. Barras verticais representam erro padrão da média ($n=6$)

Figura 18 - Produção de etileno de beterrabas inteiras submetidas a tratamentos pós-colheita e armazenadas durante 10 dias a $5\pm 1^{\circ}\text{C}$ e $85\pm 5\%$ UR. Barras verticais representam erro padrão da média ($n=6$)

Análises microbiológicas

Não foi detectada a presença de *Salmonella* nas beterrabas minimamente processadas e inteiras durante o armazenamento (Tabelas 1 e 2). Vitti et al. (2004) também não detectaram

Salmonella em beterraba minimamente processada. Del Aguila et al. (2006) também não observaram *Salmonella* em rabanetes minimamente processados e armazenados a 5°C. A resolução RDC nº12 de 2 de janeiro de 2001, da Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA) do Ministério da Saúde, que estabelece para hortaliças *in natura* a ausência de *Salmonella* (em 25g de produto) visando à preservação da saúde pública.

Tabela 1 - Detecção de *Salmonella* em 25g de beterrabas minimamente processadas submetidas a tratamentos pós-colheita e armazenadas a 5±1°C e 85±5% UR, utilizando-se o kit '1-2 test' da Bio Control/USA

	Dias após o corte	
	0	10
Controle	Ausência	Ausência
Etileno	Ausência	Ausência
Ácido salicílico	Ausência	Ausência
1-MCP	Ausência	Ausência

Tabela 2 - Detecção de *Salmonella* em 25g de beterrabas inteiras submetidas a tratamentos pós-colheita e armazenadas a 5±1°C e 85±5% UR, utilizando-se o kit '1-2 test' da Bio Control/USA

	Dias após o corte	
	0	10
Controle	Ausência	Ausência
Etileno	Ausência	Ausência
Ácido salicílico	Ausência	Ausência
1-MCP	Ausência	Ausência

Em nenhuma das amostras de beterrabas minimamente processadas houve detecção de coliformes totais e fecais (Tabelas 3 e 4). Pilon et al. (2006) não observaram presença de coliformes totais e fecais em cenouras minimamente processadas.

Na metodologia de Tubos Múltiplos, valores menores que 3 NMP/g indicam que nenhum dos tubos inoculados se mostrou positivo.

A contagem inicial de coliformes totais nas beterrabas inteiras sem tratamento e tratadas com etileno e ácido salicílico foi 9 NMP/g de produto. Esta contagem aumentou nas beterrabas inteiras sem tratamento (controle) cerca de 2,5 vezes, alcançando valores em torno de 23 NMP/g de beterraba (Tabela 5). Não houve detecção de coliformes fecais nas beterrabas inteiras (Tabela 6).

Para frutas e hortaliças minimamente processadas, ainda não existe uma legislação com os limites de contagens toleradas. Entretanto, estes resultados estão dentro do limite estabelecido pela resolução RDC nº12 de 2 de janeiro de 2001, da Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA) do Ministério da Saúde, de no máximo, 10^2 NMP de coliformes fecais/g de hortaliça fresca.

Tabela 3 - NMP de coliformes totais em beterrabas minimamente processadas submetidas a tratamentos pós-colheita e armazenadas a $5\pm1^\circ\text{C}$ e $85\pm5\%$ UR, utilizando-se a metodologia de tubos múltiplos. Os resultados representam o NMP de coliformes totais/g de produto

	Dias após o corte		
	0	5	10
----- NMP de coliformes totais -----			
Controle	< 3	< 3	< 3
Etileno	< 3	< 3	< 3
Ácido salicílico	< 3	< 3	< 3
1-MCP	< 3	< 3	< 3

Tabela 4 - NMP de coliformes fecais em beterrabas minimamente processadas submetidas a tratamentos pós-colheita e armazenadas a $5\pm 1^{\circ}\text{C}$ e $85\pm 5\%$ UR, utilizando-se a metodologia de tubos múltiplos. Os resultados representam o NMP de coliformes fecais/g de produto

	Dias após o corte		
	0	5	10
----- NMP de coliformes fecais -----			
Controle	< 3	< 3	< 3
Etileno	< 3	< 3	< 3
Ácido salicílico	< 3	< 3	< 3
1-MCP	< 3	< 3	< 3

Tabela 5 - NMP de coliformes totais em beterrabas inteiras submetidas a tratamentos pós-colheita e armazenadas a $5\pm 1^{\circ}\text{C}$ e $85\pm 5\%$ UR, utilizando-se a metodologia de tubos múltiplos. Os resultados representam o NMP de coliformes totais/g de produto

	Dias após o corte		
	0	5	10
----- NMP de coliformes totais -----			
Controle	9	23	23
Etileno	9	9	9
Ácido salicílico	9	9	9
1-MCP	4	9	9

Tabela 6 - NMP de coliformes fecais em beterrabas inteiras submetidas a tratamentos pós-colheita e armazenadas a $5\pm1^{\circ}\text{C}$ e $85\pm5\%$ UR, utilizando-se a metodologia de tubos múltiplos. Os resultados representam o NMP de coliformes fecais/g de produto

	Dias após o corte		
	0	5	10
	----- NMP de coliformes fecais -----		
Controle	< 3	< 3	< 3
Etileno	< 3	< 3	< 3
Ácido salicílico	< 3	< 3	< 3
1-MCP	< 3	< 3	< 3

A contagem inicial das bactérias psicrotróficas em beterrabas minimamente processadas foi $1,3 \times 10^3$ UFC/g, ao passo que no 5º dia de armazenamento as contagens obtidas nas beterrabas sem tratamento, tratadas com etileno, ácido salicílico e 1-MCP aumentaram para valores de $3,2 \times 10^5$, $2,1 \times 10^5$, $1,3 \times 10^5$ e $4,5 \times 10^5$, respectivamente. No 10º dia de armazenamento as contagens atingiram valores maiores que $5,0 \times 10^5$ UFC/g de beterraba minimamente processada (Tabela 7). Vitti et al. (2004) observaram que no 10º dia de armazenamento as contagens de microorganismos psicrotróficos em amostras de beterrabas minimamente processadas alcançaram valores próximos de $2,04 \times 10^4$ UFC/g. No 10º dia de armazenamento as contagens obtidas em rabanetes minimamente processados aumentaram para valores próximos de 58×10^5 UFC/g (DEL AGUILA et al., 2006).

As beterrabas inteiras apresentaram contagem inicial de bactérias psicrotróficas de $1,3 \times 10^4$ UFC/g. No 5º dia, as beterrabas mantiveram a contagem de bactérias psicrotróficas dentro do limite tolerado chegando a $4,0 \times 10^5$ UFC/g (Tabela 8).

Embora não existam, na legislação brasileira vigente, padrões para bactérias psicrotróficas totais e coliformes totais, tem sido preconizado que alimentos com contagens microbianas elevadas ($> 10^5$ - 10^6 UFC/g) podem ser impróprios para o consumo humano, devido à perda de valor nutricional, alterações organolépticas, riscos de deterioração e toxinfecções (CARUSO; CAMARGO, 1984).

Tabela 7 - Contagem total de bactérias psicotróficas em beterrabas minimamente processadas submetidas a tratamentos pós-colheita e armazenadas a $5\pm 1^{\circ}\text{C}$ e $85\pm 5\%$ UR, segundo a metodologia convencional (PCA). Os resultados representam a quantidade de UFC/g de produto

	Dias após o corte		
	0	5	10
Controle	$1,3 \times 10^3$	$3,2 \times 10^5$	$>5,0 \times 10^5$
Etileno	$1,3 \times 10^3$	$2,1 \times 10^5$	$>5,0 \times 10^5$
Ácido salicílico	$1,3 \times 10^3$	$1,3 \times 10^5$	$>5,0 \times 10^5$
1-MCP	$1,3 \times 10^3$	$4,5 \times 10^5$	$>5,0 \times 10^5$

Tabela 8 - Contagem total de bactérias psicotróficas em beterrabas inteiras submetidas a tratamentos pós-colheita e armazenadas a $5\pm 1^{\circ}\text{C}$ e $85\pm 5\%$ UR, segundo a metodologia convencional (PCA). Os resultados representam a quantidade de UFC/g de produto

	Dias após o corte		
	0	5	10
Controle	$1,3 \times 10^4$	$3,3 \times 10^5$	$>5,0 \times 10^5$
Etileno	$1,3 \times 10^4$	$4,0 \times 10^5$	$>5,0 \times 10^5$
Ácido salicílico	$1,3 \times 10^4$	$2,6 \times 10^4$	$>5,0 \times 10^5$
1-MCP	$1,3 \times 10^4$	$2,5 \times 10^4$	$2,0 \times 10^5$

Como não foram observadas presenças de bactérias coliformes fecais e de *Salmonella* nas amostras analisadas, ficou evidenciada a eficácia dos cuidados higiênico-sanitários realizados durante as etapas de processamento do produto, enquadrando-o nos padrões microbiológicos vigentes no país.

2.3 Considerações Finais

A baixa temperatura de armazenamento associada ao ácido salicílico promoveu a diminuição nos teores de sólidos solúveis, pH e na taxa respiratória de beterrabas minimamente processadas. Observou-se também que o processamento mínimo não causou desidratação das células superficiais danificadas e, conseqüentemente, o esbranquiçamento das raízes de beterraba

não foi visível. Além disso, verificou-se que a fisiologia de beterraba minimamente processada é diferente de beterraba inteira, que pode ser comprovada por meio dos valores de taxa respiratória e produção de etileno que foram elevados com o processamento mínimo.

Pelas análises microbiológicas, principalmente a contagem de bactérias psicrotróficas, ficou demonstrada a importância de manter a cadeia de frio durante o processamento e comercialização do produto, o que favorece a maior conservação do mesmo. Como não foram observadas presenças de coliformes totais, coliformes a 45°C e *Salmonella* nas amostras analisadas em todos os tratamentos, ficou evidenciado a eficiência dos cuidados higiênico-sanitários tomados durante as etapas do processamento do produto, adequando-o aos padrões microbiológicos vigentes no país.

Referências

AGÊNCIA NACIONAL DE VIGILÂNCIA SANITÁRIA. Resolução – RDC nº12, de 2 jan. 2001. <http://e-legis.anvisa.gov.br/leisref/public/showAct.php>. Acesso em 23 nov. 2007.

BOLIN, H.R.; HUXSOLL, C.C. Control of minimally processed carrot (*Daucus carota*) surface discoloration caused by abrasion peeling. **Journal of Food Science**, Chicago, v.56, n.2, p.416-418, 1991.

BRECHT, J.K. Physiology of lightly processed fruits and vegetables. **HortScience**, Alexandria, v.30, n.1, p.18-22, 1995.

CARUSO, J.G.B.; CAMARGO, R. Microbiologia de Alimentos. In: CAMARGO, R. (Ed.). **Tecnologia dos produtos agropecuários-alimentos**. São Paulo: Nobel, 1984. p.35-49.

CHITARRA, M.I.F.; CHITARRA, A.B. **Pós-colheita de frutas e hortaliças: fisiologia e manuseio**. 2 ed. Lavras: UFLA, 2005. 785p.

DEL AGUILA, J.S.; SASAKI, F.F.; HEIFFIG, L.S.; ONGARELLI, M.G.; GALLO, C.R.; JACOMINO, A.P.; KLUGE, R.A. Determinação da microflora em rabanetes minimamente processados. **Horticultura Brasileira**, Brasília, v.24, n.1, p.75-78, 2006.

GÓMEZ-LÓPEZ, V.M.; DEVLIEGHIERE, F.; RAGAERT, P.; DEBEVERE, J. Shelf-life extension of minimally processed carrots by gaseous chlorine dioxide. **International Journal of Food Microbiology**, Amsterdam, v.116, p.221-227, 2007.

KASMIRE, R.F.; CANTWELL, M. Postharvest handling systems: underground vegetables (roots, tubers and bulbs). In: KADER, A.A. (Ed.). **Postharvest technology of horticultural crops**. 2nd ed. Davis: University of California, 1992. p.271-275.

KLUGE, R.A.; COSTA, C.A.; VITTI, M.C.D.; ONGARELLI, M.G.; JACOMINO, A.P.; MORETTI, C.L. Armazenamento refrigerado de beterraba minimamente processada em diferentes tipos de corte. **Ciência Rural**, Santa Maria, v.36, n.1, p.263-270, 2006.

MORETTI, C.L. Panorama internacional do processamento mínimo. In: ENCONTRO NACIONAL SOBRE PROCESSAMENTO MÍNIMO DE FRUTAS E HORTALIÇAS, 5., 2008, Lavras. **Palestras...**Lavras: Universidade Federal de Lavras, 2008. p.28-33.

MORETTI, C.L.; MACHADO, C.M.M. Aproveitamento de resíduos sólidos do processamento mínimo de frutas e hortaliças. In: ENCONTRO NACIONAL SOBRE PROCESSAMENTO MÍNIMO DE FRUTAS E HORTALIÇAS, 4., 2006, São Pedro. **Palestras...**São Pedro: Universidade de São Paulo, 2006. p.25-32.

MORETTI, C.L.; BALDWIN, E.A.; SARGENT, S.A.; HUBER, D.J. Internal bruising alters aroma volatile profiles in tomato fruit tissues. **HortScience**, Alexandria, v.37, p.378-382, 2002a.

MORETTI, C.L.; ARAÚJO, A.L.; MAROUELLI, W.A.; SILVA, W.L.C. Respiratory activity and browning of minimally processed sweet potatoes. **Horticultura Brasileira**, Brasília, v.20, n.3, p.497-500, 2002b.

NGUYEN, C.; CARLIN, F. The microbiology of minimally processed fresh fruits and vegetables. **Critical Reviews in Food Science and Nutrition**, Boca Raton, v.34, n.4, p.371-401, 1994.

OSORNIO, M.M.L.; CHAVES, A.R. Quality changes in stored raw grated beetroots as affected by temperature and packaging film. **Journal of Food Science**, Chicago, v.63, n.2, p.327-330, 1998.

PILON, L.; OETTERER, M.; GALLO, C.R.; SPOTO, M.H.F. Shelf life of minimally processed carrot and green pepper. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, Campinas, v.26, n.1, p.150-158, 2006.

PINTO, D.M.; TEIXEIRA, J.S.C.; RODRIGUES, L.J.; DE PAULA, N.R.F.; LIMA, L.C.O. Qualidade de beterraba minimamente processada em diferentes tipos de corte e armazenada sob refrigeração. In: ENCONTRO NACIONAL SOBRE PROCESSAMENTO MÍNIMO DE FRUTAS E HORTALIÇAS, 5., 2008, Lavras. **Resumos...**Lavras: Universidade Federal de Lavras, 2008. p.160.

PURVIS, A.C. The role of adaptive enzymes in carbohydrates oxidation by stressed and senescing plant tissues. **HortScience**, Alexandria, v.32, p.1165 –1168, 1997.

ROLLE, R.; CHISM, G.W. Physiological consequences of minimally processed fruits and vegetables. **Journal of Food Quality**, Wastport, v.10, n.5, p.157-165, 1987.

SALTVEIT, M.E. Fresh-cut vegetables. In: BARTZ, J.A.; BRECHT, J.K. (Ed.) **Postharvest Physiology and Pathology of Vegetables**. New York: Marcel Dekker, 2003. p.691-712.

SHEWFELT, R.L. Postharvest treatment for extending the shelf life of fruits and vegetables. **Food Technology**, Chicago, v.2, n.5, p.70-80, 1987.

SILVA, N.; JUNQUEIRA, V.C.A.; SILVEIRA, N.F.A. **Manual de métodos de análise microbiológica de alimentos**. São Paulo: Varela, 2001. 317p.

SIMÕES, A.N.; VENTRELLA, M.C.; CARNELOSSI, M.A.G.; MORETTI, C.L.; PUSCHMANN, R. Estudos anatômicos acerca do esbranquiçamento na superfície de minicenoura. In: ENCONTRO NACIONAL SOBRE PROCESSAMENTO MÍNIMO DE FRUTAS E HORTALIÇAS, 5., 2008, Lavras. **Resumos...**Lavras: Universidade Federal de Lavras, 2008. p.138.

VITTI, M.C.D. **Aspectos fisiológicos, bioquímicos e microbiológicos em beterrabas minimamente processadas**. 2003. 116p. Dissertação (Mestrado em Ciências) – Escola Superior de Agricultura ‘Luiz de Queiroz’, Universidade de São Paulo, Piracicaba, 2003.

VITTI, M.C.D.; KLUGE, R.A.; YAMAMOTTO, L.K.; JACOMINO, A.P. Comportamento de beterraba minimamente processada em diferentes espessuras de corte. **Horticultura Brasileira**, Brasília, v.21, n.4, p.623-626, 2003.

VITTI, M.C.D.; KLUGE, R.A.; GALLO, C.R.; SCHIAVINATO, M.A.; MORETTI, C.L.; JACOMINO, A.P. Aspectos fisiológicos e microbiológicos de beterrabas minimamente processadas. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v.39, n.10, p.1027-1032, 2004.

WATADA, A.E.; KO, N.P.; MINOTT, D.A. Factors affecting quality of fresh-cut horticultural products. **Postharvest Biology and Technology**, Amsterdam, v.9, p.115-125, 1996.

WATKINS, C.B. The use of 1-methylcyclopropene (1-MCP) on fruits and vegetables. **Biotechnology Advances**, Amsterdam, v.24, p.389-409, 2006.

WELLS, J.M.; BUTTERFIELD, J.E. Incidence of Salmonella on fresh fruits and vegetables affected by fungal rots or physical injury. **Plant Disease**, St. Paul, v.83, p.722-726, 1999.

WILEY, R.C. **Minimally processed refrigerated fruits and vegetables**. New York: Chapman & Hall, 1994. 368p.

ZHANG, Y.; CHEN, K.; ZHANG, S.; FERGUSON, I. The role of salicylic acid in postharvest ripening of kiwifruit. **Postharvest Biology and Technology**, Amsterdam, v.28, p.67-74, 2003.

3 ALTERAÇÕES NO METABOLISMO SECUNDÁRIO DE BETERRABAS MINIMAMENTE PROCESSADAS E INTEIRAS SUBMETIDAS A TRATAMENTOS PÓS-COLHEITA

Resumo

O objetivo do trabalho foi verificar o efeito de tratamentos pós-colheita em beterraba minimamente processada e inteira sobre alguns aspectos do metabolismo secundário. Para o processamento mínimo, as raízes foram selecionadas quanto à firmeza, cor e tamanho, descascadas, sanificadas, sendo em seguida cortadas em retalhos (2mm de espessura), enxaguadas e centrifugadas. Os tratamentos aplicados foram: etileno ($1000\mu\text{L L}^{-1}$), 1-MCP (300nL L^{-1}) e ácido salicílico (500mg L^{-1}), além do controle sem tratamento. Após os tratamentos, as beterrabas foram armazenadas a 5°C durante 10 dias. Verificou-se que, em tecidos de beterrabas 'Early wonder' não houve qualquer indício de adstringência, o que é desejável, pois a presença de tanino nos alimentos pode prejudicar a absorção de ferro. As injúrias causadas durante o processamento mínimo induziram o aumento na atividade da fenilalanina amônia-liase (PAL). Entretanto, a aplicação de ácido salicílico diminuiu a atividade desta enzima. Os tratamentos aplicados nas beterrabas minimamente processadas e inteiras pouco influenciaram na concentração de betalaínas e fenóis totais.

Palavras-chave: *Beta vulgaris* L.; Processamento mínimo; Tanino; Betalaínas; Fenilalanina amônia-liase

3 CHANGES IN SECONDARY METABOLISM OF MINIMALLY PROCESSED AND WHOLE BEET ROOTS SUBMITTED TO POSTHARVEST TREATMENTS

Abstract

The purpose of the present work was to evaluate the effects of postharvest treatments applications on some aspects of secondary metabolism of minimally processed and whole beet roots. For the minimal processing, beet roots were graded for firmness, color and size, and were peeled. Roots were then sanitized, shredded (2mm thick), rinsed and centrifuged. The following treatments were applied: ethylene ($1000\mu\text{L L}^{-1}$), 1-MCP (300nL L^{-1}) and, salicylic acid (500mg L^{-1}). After treatments, beet roots were stored at 5°C during 10 days. It was not detected astringency on beet roots 'Early wonder' tissues. This characteristic is desirable, since the tannin presence in food can to limit the iron absorption. The injuries occurred during the minimal processing induced increase the phenylalanine ammonia-lyase (PAL) activity. However, the use of salicylic acid decreased the activity of this enzyme. The treatments applied on whole and minimally processed beet roots have little influence on betalains and total phenol concentration.

Keywords: *Beta vulgaris* L.; Minimal processing; Tannin; Betalains; Phenylalanine ammonia-lyase

3.1 Introdução

O estímulo à produção de etileno provocado pelas injúrias do processamento mínimo tem, entre outras conseqüências, a ativação do metabolismo fenilpropanóide dos vegetais, em função principalmente do aumento na atividade de enzimas deste metabolismo, sobretudo da fenilalanina amônia-liase (PAL). A PAL está situada em um ponto de ramificação entre os metabolismos primário e secundário, de forma que a reação que ela catalisa é uma etapa reguladora importante na formação de muitos compostos fenólicos.

Várias substâncias são produzidas durante o metabolismo secundário de frutas e hortaliças, incluindo um grande número de compostos fenólicos. Todos os metabólitos secundários, embora não diretamente relacionados ao crescimento e desenvolvimento do vegetal, apresentam funções principalmente de defesa contra herbivoria e patógenos, além de características desejáveis para a disseminação e perpetuação de espécies.

Tem sido verificado que muitos dos compostos secundários podem ser tanto prejudiciais quanto benéficos à saúde humana. Neste último caso temos o exemplo das betalaínas, que são pigmentos encontrados na beterraba, formados durante o metabolismo secundário, e pertencentes ao grupo dos compostos secundários nitrogenados. As betalaínas têm sido relatadas como potentes agentes antioxidantes, podendo ser utilizadas para prevenir alguns tipos de cânceres.

A presença de tanino, outro metabólito secundário (este pertencente ao grupo dos compostos fenólicos) pode ser apreciada em alguns alimentos, mas pode ser inconveniente em alimentos infantis, pois pode prejudicar a absorção de ferro. O ferro é vital para a formação da hemoglobina, o pigmento vermelho dos glóbulos vermelhos (hemácias) do sangue. Existe uma crença popular que a ingestão de suco da beterraba pode prevenir ou reduzir a anemia. Isso não é verdadeiro, considerando a quantidade de ferro na raiz da beterraba, 0,8 a 1,0mg/100g, segundo dados levantados na FAO.

Em produtos minimamente processados pouco se conhece sobre as alterações no metabolismo secundário decorrentes da injúria do processamento, sendo que os estudos a cerca da atividade da PAL e metabolismo dos taninos e betalaínas podem contribuir para uma melhor caracterização nutricional destes alimentos bem como para o desenvolvimento de técnicas de pós-colheita que permitam a manutenção das qualidades nutricionais.

3.2 Desenvolvimento

3.2.1 Revisão Bibliográfica

O consumo de produtos minimamente processados tem tido considerável aumento nos últimos anos, em função do maior interesse dos consumidores por produtos cada vez mais naturais e convenientes (DURIGAN; SARGENT, 1999), e também pela maior participação da mulher no mercado de trabalho, envelhecimento da população e aumento na importância das refeições coletivas (MORETTI, 2001).

O termo “fresh-cut” ou minimamente processado identifica frutas e hortaliças que são cortadas em porções menores e prontas para o consumo ou preparo (SALTVEIT, 2003). O consumo de produtos MP vem crescendo rapidamente e novos produtos estão sendo desenvolvidos.

O processamento mínimo inclui operações de seleção, lavagem, descascamento e corte, visando obter um produto fresco e conveniente para o preparo ou consumo (BURNS, 1995). A durabilidade deste tipo de produto é extremamente baixa se comparada ao produto inteiro, considerando que na superfície do corte, as células e as membranas celulares são destruídas ocorrendo alteração no metabolismo celular.

As células vegetais contêm muitos compostos que estão estocados em compartimentos separados por membranas semipermeáveis. A membrana celular que circunda o citoplasma estabelece uma ligação entre ele e o ambiente externo. Já a membrana que envolve o maior compartimento das células maduras – o vacúolo – evita o contato das enzimas presentes no citosol dos compostos estocados no vacúolo, tais como ácidos orgânicos e compostos fenólicos. O fermento provocado pelo corte não só danifica fisicamente as membranas das células injuriadas, mas também afeta o funcionamento das membranas de células adjacentes, tanto que compostos compatíveis, ou não, podem reagir e produzir reações indesejáveis e incontroláveis. Por exemplo, compostos fenólicos presentes no vacúolo podem ser atacados por enzimas presentes no citosol (p.ex. polifenoloxidase), produzindo compostos escuros que alteram a coloração do produto.

Dentre as principais alterações decorrentes do processamento mínimo está o aumento na respiração e na produção de etileno, o que invariavelmente contribuem para a redução da vida de prateleiras destes produtos (BRECHT, 1995). A elevação na respiração dos tecidos injuriados

pode ser uma consequência do incremento na produção de etileno. Além disso, a injúria do processamento mínimo leva a um aumento na degradação do amido e na atividade do ciclo de Krebs e da cadeia de transporte de elétrons. A perda de compartimentação celular, provocada pelo corte do produto, também aumenta a produção de piruvato, produto final da glicólise, devido ao extravasamento de fosfoenolpiruvato do vacúolo e subsequente reação com a enzima piruvato quinase, presente no citosol. O aumento na respiração pode ser uma resposta às maiores necessidades de ATP e síntese de moléculas necessárias para reparar os danos da injúria provocada pelo processamento mínimo (PURVIS, 1997). O fato é que este estímulo na respiração esgota rapidamente os substratos presentes nos tecidos cortados, sejam eles ácidos orgânicos, carboidratos ou lipídios.

A perda ou redução da compartimentação celular ativa o sistema gerador de etileno, estimulando sua síntese, algumas vezes em poucos minutos. O etileno produzido em decorrência da lesão, também denominado de “etileno de ferimento” (“wound ethylene”), acelera a deterioração e a senescência dos tecidos vegetais, sejam de frutas ou hortaliças. O caminho biossintético para a produção do etileno de ferida é o mesmo do verificado para o amadurecimento de frutos (BRECHT, 1995).

O nível de etileno induzido é tanto maior quanto maior o grau de injúria nos tecidos. Em beterraba, por exemplo, não foi detectado etileno em raízes inteiras e naquelas apenas descascadas, mas verificou-se a presença deste hormônio ao fazer o processamento mínimo, ou seja, quando o tecido sofreu injúria. Uma vez estimulado, o hormônio continuou a ser sintetizado durante o armazenamento a 5°C (VITTI, 2003).

Tanto a injúria do processamento mínimo quanto o etileno produzido estimulam o metabolismo fenólico em tecidos de plantas. A injúria pode estimular o metabolismo fenólico por meio da indução da produção de etileno ou de outro regulador vegetal ou ainda um sinal ainda não identificado (SALTVEIT, 2003). Se o ferimento estimula o metabolismo fenólico, por meio da produção de etileno de ferimento, então o incremento no metabolismo fenólico, o qual é a base para muitas respostas indesejáveis do ferimento em produtos minimamente processados, pode ser eliminada pela simples inibição da síntese ou ação do etileno. Entretanto, ainda não se sabe com certeza se o etileno é o sinal primário para a indução do metabolismo fenólico nos tecidos vegetais. Assim, o bloqueio de sua produção ou ação pode fornecer subsídios para responder esta questão. O etileno pode ter a sua ação bloqueada pela aplicação do 1-metilciclopropeno

(SISLER; SEREK, 1997). A produção de etileno, por sua vez, pode ser reduzida com a aplicação de ácido salicílico, que inibe a ACC oxidase, a enzima formadora do etileno (JUN et al., 1999).

O metabolismo fenólico ou fenilpropanóide é responsável pela acumulação de vários tipos de compostos, como lignina, flavonóides, compostos de defesa contra herbivoria e patógenos, entre outros. Muitos compostos fenólicos formados podem ser atacados por enzimas oxidativas, o que gera um subsequente escurecimento dos tecidos. O ferimento em alface, por exemplo, produz um sinal que migra através dos tecidos e induz a síntese de enzimas no caminho metabólico responsável pelo incremento na produção de compostos fenólicos (KE; SALTVEIT, 1989).

A PAL é uma das enzimas mais importantes do metabolismo fenólico. A atividade da PAL é regulada durante o crescimento vegetal, mas ela é também induzida em células vizinhas ao local de infecção por vários estímulos ambientais. Tem sido verificado que a atividade da PAL aumenta significativamente em respostas a diversos tipos de estresses, como fermentos (KE; SALTVEIT, 1989), exposição ao etileno (HYODO; KURODA; YANG, 1978; LÓPEZ-GÁLVEZ; SALTVEIT; CANTWELL, 1996) e infecção fúngica (JONES, 1984).

Os taninos pertencem ao grupo dos compostos fenólicos, sendo polifenóis, que apresentam propriedade de defesa para o vegetal, servindo como repelentes a uma grande variedade de animais. São divididos em dois grupos: a) taninos condensados: são compostos formados pela polimerização de unidades de flavonóides, sendo normalmente constituintes de plantas lenhosas; e b) taninos hidrolisáveis: são polímeros heterogêneos que contêm ácidos fenólicos, especialmente o ácido gálico, e açúcares simples. Estes taninos hidrolisáveis são apreciados, em pequenas quantidades, por humanos, em alguns alimentos, como maçãs, caquis, amoras, chá e vinho tinto (TAIZ; ZEIGER, 2002). Os taninos condensados, particularmente as proantocianidinas e seus precursores, como as catequinas, são compostos bioativos que agem na prevenção de algumas doenças do aparelho circulatório e possuem propriedades antioxidantes (WILSKA-JESZKA, 1996). Recentemente foi demonstrado que os polifenóis do vinho, tais como os taninos, impedem a formação de endotelina-1, uma molécula sinalizadora com atividade constritora dos vasos sanguíneos (CORDER et al., 2001). Por outro lado, a ingestão de alimentos com tanino pode reduzir a absorção de ferro, principalmente durante a alimentação infantil (AKRÉ, 1997).

Dentre as hortaliças minimamente processadas no Brasil, a beterraba, uma raiz tuberosa de cor vermelho-arroxeadada devido à presença de betalaínas, tem se destacado. As betalaínas são

produtos naturais provenientes do metabolismo secundário, e pertencente ao grupo dos compostos secundários nitrogenados. São pigmentos hidrossolúveis, sendo divididos em duas classes: as betacianina (cor avermelhada) e as betaxantina (cor amarelada), caracterizando a coloração típica das raízes. Estes pigmentos, além de fornecerem cor à beterraba, são importantes substâncias antioxidantes para a dieta humana, sendo importantes na prevenção de alguns tipos de cânceres (KANNER; HAREL; GRANIT, 2001). A beterraba, na forma de suco, tem sido erroneamente utilizada como fonte de ferro para o combate de anemia infantil. Segundo dados da FAO, a beterraba é um alimento pouco rico em ferro (0,8 a 1,0mg/100g).

Um dos principais problemas tecnológicos observados em beterraba é a descoloração do produto minimamente processado. As operações de lavagem, sanificação e enxágüe, realizadas após o corte, favorecem a perda de betalaínas, devido a estes pigmentos serem solúveis em água (NILSON, 1970). Entretanto, a lavagem, a sanificação e o enxágüe são processos essenciais dentro do fluxograma de preparo de beterraba minimamente processada, pois reduzem a contaminação microbiana e os riscos de toxinfecções alimentares. Conhecimentos referentes ao metabolismo das betalaínas são escassos na literatura, e uma vez realizados podem contribuir para o desenvolvimento de técnicas que reduzam a perda destas importantes substâncias nutracêuticas.

3.2.2 Material e Métodos

Beterrabas cv. Early Wonder foram obtidas de um produtor da região de São José do Rio Preto-SP. As raízes sofreram uma seleção quanto ao tamanho e ausência de injúrias mecânicas e patológicas e foram pré-lavadas em água corrente com o objetivo de retirar as impurezas advindas do campo.

O produto foi imerso em água resfriada (5°C) por 2 minutos para reduzir a atividade metabólica antes do processamento. A seguir as beterrabas foram submetidas ao descascamento mecânico em descascadora industrial (Shymesen) com disco abrasivo. As raízes foram sanificadas por 3 minutos em água clorada (200ppm de Dicloro-S-Triazinatriona Sódica Diidratada - SUMAVEG®), com o objetivo de reduzir riscos de contaminação. A seguir foram submetidas à etapa de corte em forma de retalhos. Utilizou-se uma processadora industrial (Robot Coupe). Após essa etapa, o produto foi enxaguado em água potável por 1 minuto para a retirada do

excesso de cloro. Em seguida, foram centrifugadas (800 xg) em centrífuga doméstica durante 20 segundos para a retirada do excesso de umidade.

Todos os tratamentos foram acondicionados em bandejas de poliestireno expandido, nas dimensões 14x20cm de largura e comprimento, respectivamente, envolvidas por filme de policloreto de vinila (PVC) e armazenados a $5\pm 1^{\circ}\text{C}$ e $85\pm 5\%$ UR.

Os tratamentos aplicados tanto nas beterrabas minimamente processadas quanto inteiras foram: etileno ($1000\mu\text{L L}^{-1}$), 1-MCP (300nL L^{-1}) e ácido salicílico (500mg L^{-1}), além do controle.

O período de armazenamento foi de 10 dias, sendo que as avaliações foram realizadas a cada dois dias. O delineamento experimental foi inteiramente ao acaso, em esquema fatorial 4 x 6, onde os fatores estudados foram: tratamento (em quatro níveis) e tempo de armazenamento (em seis níveis). Foram utilizadas quatro repetições por tratamento, sendo que cada parcela foi composta por 200 gramas de beterraba minimamente processada ou inteira.

As variáveis avaliadas foram:

a) Análises anatômicas: amostras retangulares do endocarpo da beterraba foram retiradas paralelamente ao eixo longitudinal da hortalça, na região de maior diâmetro, e mediam 3x3mm no plano transversal e 5mm no plano longitudinal. Utilizou-se amostras do mesocarpo de caqui como padrão. As amostras foram fixadas na solução de sulfato ferroso em formalina (JOHANSEN, 1940) e levadas à bomba de vácuo para a retirada do ar contido nos espaços intercelulares. Após a fixação, as amostras foram lavadas com água destilada e desidratadas em série etílica. As amostras desidratadas foram infiltradas com a solução de “BASIC RESIN”. As secções ($5\mu\text{m}$ de espessura) feitas em micrótomo rotativo manual (Leica) foram montadas em historresina. As lâminas foram fotomicrografadas em microscópio Nikon AFX-DX, com as escalas micrométricas fotografadas e ampliadas nas mesmas condições ópticas utilizadas.

b) Índice de adstringência: avaliado pelo método qualitativo de Gazit e Levy (1963). Consistiu em avaliar a impressão obtida do contato por alguns segundos entre uma das faces cortadas da hortalça em um papel de filtro, previamente tratado com solução 5% de cloreto férrico (FeCl_3). Em seguida, o grau de adstringência foi determinado por meio da comparação com a escala de notas conforme Figura 19.

Figura 19 - Impressão em papel-filtro, impregnado com FeCl_3 , da metade de um fruto de caqui 'Hachiya', cortado longitudinalmente, em diferentes estádios de adstringência (1 = não adstringente, 2 = ligeiramente adstringente à não adstringente, 3 = moderadamente adstringente, 4 = adstringente e 5 = muito adstringente). Fonte: Gazit e Levy (1963)

c) Fenóis totais: foram determinados segundo o método descrito por Singleton e Rossi (1965) utilizando o reagente de Folin-Ciocalteu. Macerou-se 1g de amostra em 9ml de água destilada. Retirou-se uma alíquota de 0,2mL. A alíquota foi adicionada a 1ml de solução aquosa de Folin-Ciocalteu 10% e 0,8ml de carbonato de sódio 7,5%. Deixou-se no escuro por 2 horas efetuando-se, imediatamente após esse intervalo, a leitura em espectrofotômetro a 765nm. Foi utilizada a curva padrão de ácido gálico para o cálculo dos resultados que, por sua vez, foram expressos em mg ácido gálico 100g^{-1} massa fresca.

d) Teor de taninos totais: foi determinado espectrofotometricamente utilizando-se o reagente de Folin-Ciocalteu, segundo técnica recomendada por Makkar (2000). Para a extração, 200mg de amostra liofilizada foram adicionados a 10ml de solução água:acetona (30:70, v/v) e submetidos a banho ultrassônico (KERRY ULTRASONICS LIMITED – MODELO 250), por 20 minutos. Os conteúdos foram centrifugados por 10 minutos ($3000 \times g$) a 4°C . O sobrenadante foi coletado e conservado em gelo.

Foram pesados 100mg de polivinilpolipirrolidona (PVPP) em tubos de ensaio e, nestes tubos, adicionados 1ml de água destilada e 1ml do sobrenadante resultante da extração descrita anteriormente. Após agitação, os tubos foram coletados em geladeira por 15 minutos e em seguida, agitados novamente. Os tubos foram centrifugados a $3000 \times g$ por 10 minutos a 4°C e o sobrenadante foi coletado. Do sobrenadante, 100 μL foram pipetados em tubos de ensaio (em

duplicata), e aos tubos foram adicionados 400 μ L de água destilada, 250 μ L do reagente de Folin-Ciocalteu (1N) e 1,25mL de solução de carbonato de sódio 20%. Após 40 minutos, foi feita a leitura em espectrofotômetro, em absorbância a 725nm. Obteve-se assim a concentração de fenóis simples.

Para a obtenção dos taninos totais, foi feita a diferença entre o teor de fenóis totais e fenóis simples.

A curva padrão para taninos totais foi feita utilizando-se solução de ácido tânico para o cálculo dos resultados que, por sua vez, foram expressos em eq.mg de ácido tânico 100g⁻¹ massa fresca.

e) Teores de betalaínas: para a determinação dos teores de betacianina e betaxantina foi utilizado o método adaptado de Nilson (1970). Dois gramas de cada amostra previamente congelada foram maceradas com 5mL de água destilada. A solução foi colocada em tubetes e centrifugada em centrífuga refrigerada a 4°C, rotação de 6000 xg, durante 40 minutos. Em um tubo de ensaio foram homogeneizados 400 μ L do sobrenadante e 4 mL de água destilada. Foram feitas leituras das amostras a 476nm, 538nm e 600nm. Os cálculos foram feitos através das seguintes fórmulas: $x = 1,095 (a-c)$, $y = b-z-x/3,1$ e $z = a-x$, sendo: a = leitura da amostra (538nm); b = leitura da amostra (476nm); c = leitura da amostra (600nm); x = absorção de betacianina; y = absorção de betaxantina; z = absorção de impurezas. Os resultados foram expressos em mg betacianina 100g⁻¹ massa fresca e mg betaxantina 100g⁻¹ massa fresca.

f) Atividade da PAL (fenilalanina amônia-liase): foi utilizada a metodologia adaptada de Peixoto (1999). Amostras de 1g de beterraba foram maceradas em N₂, e foram adicionados 9mL de tampão borato de sódio 0,1M de pH 8,8 contendo PVP (5% m/v). Logo em seguida os tubos foram levados à centrífuga a 4800 xg a 4°C por 20 minutos. Uma vez retirados da centrífuga, os extratos brutos foram coletados e armazenados em microtubos tipo eppendorf. Desse extrato foi retirado 1mL, que recebeu então 1mL de tampão borato de sódio 0,2M.

Foi necessária a composição de dois brancos: branco geral, para calibrar o espectrofotômetro, e o branco da amostra, que desconta o valor dos pigmentos quando comparado à amostra. O branco geral foi constituído de 1,5mL de tampão borato 0,1M mais 1,5mL de tampão borato 0,2M. O branco do tratamento constituiu-se de 1mL de extrato e 2mL de tampão borato 0,2M. Já as amostras constituíram-se de 1mL de extrato, 1mL de tampão borato 0,1M e 1mL de fenilalanina (que foi adicionada após 5 minutos de banho térmico).

A determinação foi realizada em espectrofotômetro com leitura a 290nm. Os resultados foram expressos em nmol ác. cinâmico mg^{-1} proteína h^{-1} .

g) Proteínas solúveis: foi determinada para cálculo da atividade específica da PAL. O teste de Bradford (1976) foi adaptado e empregado para quantificação do conteúdo total de proteínas das amostras. Para tanto, foram adicionados a cada 0,1mL do sobrenadante, sob agitação, 1mL do reagente de Bradford. Após 5 minutos, foi efetuada a leitura da absorbância a 595nm em espectrofotômetro.

Os resultados das análises bioquímicas foram submetidos à análise de variância e as médias foram comparadas pelo teste da diferença mínima significativa ($p \leq 0,05$), em que as diferenças entre dois tratamentos maior que a soma de dois erros padrões foram consideradas significativas (MORETTI et al., 2002).

3.2.3 Resultados e Discussão

Por meio do método descrito por Makkar (2000) foram detectados teores muito baixos de taninos totais em beterrabas inteiras e minimamente processadas ($< 0,09$ eq.mg de ácido tânico 100g^{-1} massa fresca). Devido a esse fato realizaram-se análises complementares para comprovar esses resultados.

Nas análises anatômicas verificou-se que o endocarpo de beterraba cv. Early Wonder apresentava células parenquimáticas isodiamétricas de tamanhos distintos. As células eram túrgidas e arranjadas, e deixavam pequenos espaços intercelulares. Não foi possível observar a presença de idioblastos fenólicos nas células parenquimáticas da beterraba (Figura 20). Como comparação, foi avaliado o mesocarpo de caqui ‘Giombo’, o qual apresentava grande quantidade desses idioblastos contendo compostos fenólicos (Figura 21).

Figura 20 - Cortes transversais do endocarpo de beterrabas cv. Early Wonder. A. Visão geral das células parenquimáticas e do feixe vascular. B. Detalhe das células parenquimáticas de tamanhos distintos arranjadas deixando pequenos espaços intercelulares

Figura 21 - Cortes transversais do mesocarpo de caquis cv. Giombo. C. Visão geral das células parenquimáticas e de idioblastos contendo compostos fenólicos nos espaços intercelulares. D. Detalhe dos idioblastos fenólicos

O grau de taninos solúveis (índice de adstringência) observado na beterraba cv. Early Wonder foi muito baixo quando comparado ao índice detectado em caqui cv. Giombo. A coloração observada no papel filtro destinado à beterraba ocorreu em decorrência da grande quantidade de pigmentos (betalaínas) e não pela reação imediata entre os taninos solúveis presentes no tecido da beterraba e a solução de FeCl_3 (Figura 22).

Esses resultados indicam que em tecidos de beterrabas 'Early wonder' não houve qualquer indício de adstringência. A ausência de tanino pode ser desejável em alimentos infantis, pois não prejudica a absorção de ferro.

Figura 22 - Impressão em papel-filtro, impregnado com FeCl_3 , da metade de um fruto de caqui 'Giombo' e de uma beterraba 'Early wonder', cortados longitudinalmente

Houve pouca influência dos tratamentos sobre o teor de fenóis totais. Os valores variaram de 42 a 60mg ácido gálico 100g^{-1} massa fresca para as beterrabas minimamente processadas (Figura 23) e de 55 a 90mg ácido gálico 100g^{-1} massa fresca para as beterrabas inteiras (Figura 24).

Estresses causados nos vegetais frescos podem afetar a fisiologia desses por meio da indução do metabolismo fenilpropanóide. Dessa forma, pode haver um incremento no acúmulo de compostos fenólicos ou outros metabólitos secundários (REYES; VILLARREAL; CISNEROS-ZEVALLOS, 2007). Por exemplo, injúrias causadas durante o processamento

mínimo induzem o aumento na atividade da PAL (SALTVEIT, 2000), que por sua vez pode induzir o acúmulo de compostos fenólicos.

Os fenóis são metabólitos secundários presentes nas plantas sendo sintetizados na rota do ácido chiquímico apresentando diferentes estruturas químicas e propriedades biológicas. Esses compostos podem influenciar a aparência, aroma e sabor e a segurança de alimentos processados (VITTI, 2007).

O aumento na produção de fenóis totais após o processamento depende do tipo de tecido vegetal e do próprio composto fenólico produzido (REYES; VILLARREAL; CISNEROS-ZEVALLOS, 2007). Não há relatos na literatura para os teores de fenóis totais em beterrabas minimamente processadas e inteiras. A ausência de uma marcante elevação nos teores de fenóis no processamento mínimo deve ser melhor estudada em futuros trabalhos.

Figura 23 - Teores de fenóis totais de beterrabas minimamente processadas submetidas a tratamentos pós-colheita e armazenadas durante 10 dias a $5\pm 1^{\circ}\text{C}$ e $85\pm 5\%$ UR. Barras verticais representam erro padrão da média ($n=4$)

Figura 24 - Teores de fenóis totais de beterrabas inteiras submetidas a tratamentos pós-colheita e armazenadas durante 10 dias a $5\pm 1^\circ\text{C}$ e $85\pm 5\%$ UR. Barras verticais representam erro padrão da média ($n=4$)

A aplicação de ácido salicílico em beterrabas minimamente processadas diminuiu a atividade da PAL (Figura 25). Isto pode ter ocorrido devido à menor disponibilidade do substrato fenilalanina, pois esse aminoácido é produzido na via do ácido chiquímico, a partir do fosfoenolpiruvato (da glicólise) e eritrose 4-fosfato (da via pentose-fosfato) (CASTRO; KLUGE; PERES, 2005). Como a taxa respiratória foi menor em beterrabas minimamente processadas tratadas com ácido salicílico (Figura 15), é possível que menor quantidade destes precursores tenha sido produzida acarretando em menor atividade da PAL por falta de substrato. Cai e Chen (2006) indicam que o ácido salicílico pode diminuir a atividade de enzimas como a PAL e a PPO (polifenoloxidade).

Figura 25 - Atividade da PAL (fenilalanina amônia-liase) de beterrabas minimamente processadas submetidas a tratamentos pós-colheita e armazenadas durante 10 dias a $5\pm 1^{\circ}\text{C}$ e $85\pm 5\%$ UR. Barras verticais representam erro padrão da média ($n=3$)

Figura 26 - Atividade da PAL (fenilalanina amônia-liase) de beterrabas inteiras submetidas a tratamentos pós-colheita e armazenadas durante 10 dias a $5\pm 1^{\circ}\text{C}$ e $85\pm 5\%$ UR. Barras verticais representam erro padrão da média ($n=3$)

No presente trabalho, os tratamentos aplicados pouco influenciaram a concentração de betalaínas, considerando a variabilidade de valores encontrados. Os teores de betacianina em beterrabas minimamente processadas variaram entre $5,8$ e $11,2\text{mg } 100\text{g}^{-1}$ massa fresca (Figura

27) no decorrer do armazenamento. As beterrabas inteiras apresentaram valores de betacianina entre 10,3 e 27,5mg 100g⁻¹ massa fresca (Figura 28). O teor de betaxantina teve comportamento semelhante ao teor de betacianina. Os teores de betaxantina atingiram valores entre 6,4 e 12,6mg 100g⁻¹ massa fresca e 12,7 e 32,3 mg 100g⁻¹ massa fresca obtidos em beterrabas minimamente processadas e inteiras, respectivamente (Figuras 29 e 30). Assim, de maneira geral, os teores de betalaínas foram menores em beterraba minimamente processada em relação à beterraba inteira, fato este possivelmente associado a uma degradação destes pigmentos ocorrido logo após processamento mínimo.

Poucos estudos referentes aos teores de pigmentos em beterraba são encontrados na literatura. Sapers e Hornstein (1979) verificaram que o teor de betacianina e betaxantina varia em função da variedade da beterraba. Nas beterrabas inteiras das variedades Banco WW, Boltardy e Rubra os teores de betacianina e betaxantina encontrados foram de 45-210 e 20-140mg 100g⁻¹, respectivamente (NILSON, 1973).

Vitti (2003) observou que beterrabas minimamente processadas tratadas com concentrações de ácido cítrico (0, 500, 1000, 1500, 2000mg L⁻¹) apresentaram teores de betacianina próximos de 40, 45, 48, 51 e 55mg 100g⁻¹, respectivamente. Quanto aos teores de betaxantina obtidos no mesmo material atingiram valores de 25, 29, 33, 35 e 39mg 100g⁻¹, respectivamente.

Osornio e Chaves (1998) verificaram que o teor de betalaínas em beterrabas raladas e embaladas em filme de policloreto de vinila (PVC) decresceu aproximadamente 40% após 7 dias de armazenamento a 0°C. Neste trabalho, os autores observaram que a utilização de PVC para embalar o produto beneficiou a retenção do pigmento no decorrer do armazenamento.

Figura 27 - Teor de betacianina de beterrabas minimamente processadas submetidas a tratamentos pós-colheita e armazenadas durante 10 dias a $5\pm 1^\circ\text{C}$ e $85\pm 5\%$ UR. Barras verticais representam erro padrão da média ($n=4$)

Figura 28 - Teor de betacianina de beterrabas inteiras submetidas a tratamentos pós-colheita e armazenadas durante 10 dias a $5\pm 1^\circ\text{C}$ e $85\pm 5\%$ UR. Barras verticais representam erro padrão da média ($n=4$)

Figura 29 - Teor de betaxantina de beterrabas minimamente processadas submetidas a tratamentos pós-colheita e armazenadas durante 10 dias a $5\pm 1^\circ\text{C}$ e $85\pm 5\%$ UR. Barras verticais representam erro padrão da média ($n=4$)

Figura 30 - Teor de betaxantina de beterrabas inteiras submetidas a tratamentos pós-colheita e armazenadas durante 10 dias a $5\pm 1^\circ\text{C}$ e $85\pm 5\%$ UR. Barras verticais representam erro padrão da média ($n=4$)

3.3 Considerações Finais

Não foi verificado tanino em tecidos de beterraba, o que é desejável, considerando que este composto pode prejudicar a absorção de ferro, principalmente se estiver presente em alimentos infantis.

As injúrias causadas durante o processamento mínimo induziram o aumento na atividade da PAL. Entretanto, a aplicação de ácido salicílico diminuiu a atividade desta enzima.

Os tratamentos aplicados nas beterrabas minimamente processadas e inteiras pouco influenciaram na concentração de betalaínas e fenóis totais, mas o processamento mínimo parece degradar parte das betalaínas.

Referências

AKRÉ, J. (Ed.) **Alimentação infantil**: bases fisiológicas. Genebra: WABA, UNICEF Brasil e SOH-DIA, 1997. 89p.

BRADFORD, M. A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. **Analytical Biochemistry**, San Diego, v.72, n.1, p.248-254, 1976.

BRECHT, J.K. Physiology of lightly processed fruits and vegetables. **HortScience**, Alexandria, v.30, n.1, p.18-22, 1995.

BURNS, J.K. Lightly processed fruits and vegetables: introduction to the colloquium. **HortScience**, Alexandria, v.30, p.14, 1995.

CAI, C.; LI, X.; CHEN, K. Acetylsalicylic acid alleviates chilling injury of postharvest loquat (*Eriobotrya japonica* Lindl.) fruit. **European Food Research and Technology**, Berlin, v.223, p.533-539, 2006.

CASTRO, P.R.C.; KLUGE, R.A.; PERES, L.E.P. **Manual de Fisiologia Vegetal**: teoria e prática. Piracicaba: Agronômica Ceres, 2005. 650p.

CORDER, R.; DOUTHWAITE, J.A.; LEES, D.M.; KHAN, N.Q.; VISEU dos SANTOS, A.C.; WOOD, E.G.; CARRIER, M.J. Endothelin-1 synthesis reduced by red wine. **Nature**, London, n.414, p.863-864, 2001.

DURIGAN, J.F.; SARGENT, S.A. Uso do melão Cantaloupe na produção de produtos minimamente processados. **Alimentos e Nutrição**, Araraquara, v.10, p.69-77, 1999.

GAZIT, S.; LEVY, Y. Astringency and its removal in persimmon. **Israel Journal of Agricultural Research**, Rehovot, v.13, n.3, p.125-132, 1963.

HYODO, H.; KURODA, H.; YANG, S.F. Induction of phenylalanine ammonia-lyase and increase in phenolics in lettuce leaves in relation to the development of russetting spotting caused by ethylene. **Plant Physiology**, Rockville, v.2, p.31-35, 1978.

JOHANSEN, D.A. **Plant microtechnique**. New York: McGraw-Hill, 1940. 523p.

JONES, D.H. Phenylalanine ammonia-lyase: regulation of its induction, and its role in plant development. **Phytochemistry**, New York, v.23, p.1349-1359, 1984.

JUN, P.G.; NISHIMURA, N.; KUBO, Y.; NAKAMURA, R.; INABA, A. Biosynthesis of trace-ethylene in some fruits. **Journal of the Japanese Society for Horticultural Science**, Kyoto, v.61, n.1, p.199-204, 1999.

KANNER, J.; HAREL, S.; GRANIT, R. Betalains: a new class of dietary cationized antioxidants. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, Washington, v.49, p.5178-5185, 2001.

KE, D.; SALTVEIT, M.E. Wound-induced ethylene production, phenolic metabolism as susceptibility to russet spotting in iceberg lettuce. **Physiologia Plantarum**, Copenhagen, v.76, p.412-418, 1989.

LÓPEZ-GÁLVEZ, G.; SALTVEIT, M.E.; CANTWELL, M. Wound-induced phenylalanine ammonia-lyase activity: factors affecting its induction and correlation with the quality of minimally processed lettuces. **Postharvest Biology and Technology**, Amsterdam, v.9, p.223-233, 1996.

MAKKAR, H.P.S. **Quantification of tannins in tree foliage**. Vienna: FAO, IAEA, 2000. 26p.

MORETTI, C.L. Processamento mínimo de hortaliças: tendências e desafios. **Horticultura Brasileira**, Brasília, v.19, n.2, p.172, 2001.

MORETTI, C.L.; ARAÚJO, A.L.; MAROUELLI, W.A.; SILVA, W.L.C. Respiratory activity and browning of minimally processed sweet potatoes. **Horticultura Brasileira**, Brasília, v.20, n.3, p.497-500, 2002.

NILSON, T. Studies into the pigments in beetroot (*Beta vulgaris* L. ssp. *vulgaris* var. *rubra* L.). **Lantbrukshogskolans Annaler**, Uppsala, v.36, p.179-219, 1970.

NILSON, T. The pigment content in beetroot with regard to cultivar, growth, development and growing conditions. **Swedish Journal of Agriculture Research**, Oslo, v.3, n.4, p.187-200, 1973.

OSORNIO, M.M.L.; CHAVES, A.R. Quality changes in stored raw grated beetroots as affected by temperature and packaging film. **Journal of Food Science**, Chicago, v.63, n.2, p.327-330, 1998.

PEIXOTO, E.A. Aluminum effects on lipid peroxidation and on the activities of enzymes of oxidative metabolism in sorghum. **Revista Brasileira de Fisiologia Vegetal**, Campinas, v.11, n.3, p.137-143, 1999.

PURVIS, A.C. The role of adaptive enzymes in carbohydrates oxidation by stressed and senescing plant tissues. **HortScience**, Alexandria, v.32, p.1165-1168, 1997.

REYES, L.F.; VILLARREAL, J.E.; CISNEROS-ZEVALLOS, L. The increase in antioxidant capacity after wounding depends on the type of fruit or vegetable tissue. **Food Chemistry**, Guildford, v.101, p.1254-1262, 2007.

SALTVEIT, M.E. Wound induced changes in phenolic metabolism and tissue browning are altered by heat shock. **Postharvest Biology and Technology**, Amsterdam, v.21, p.61-69, 2000.

SALTVEIT, M.E. Fresh-cut vegetables. In: BARTZ, J.A.; BRECHT, J.K. (Eds.) **Postharvest Physiology and Pathology of Vegetables**. New York: Marcel Dekker, 2003. p.691-712.

SAPERS, M.G.; HORNSTEIN, J.S. Varietal differences in colorant properties and stability of red beet pigments. **Journal of Food Science**, Chicago, v.44, p.1245, 1979.

SINGLETON, V.L.; ROSSI, J.A. Colorimetry of total phenolics with phosphomolybdic-phosphotungstic acid reagents. **American Journal of Enology and Viticulture**, Davis, v.20, p.144-158, 1965.

SISLER, E.C.; SEREK, M. Inhibitors of ethylene responses in plants at the receptors level: recent developments. **Physiologia Plantarum**, Copenhagen, v.100, p.577-582, 1997.

TAIZ, L.; ZEIGER, E. **Plant physiology**. New York: The Benjamin/Cummings, 2002. 565p.

VITTI, M.C.D. **Aspectos fisiológicos, bioquímicos e microbiológicos em beterrabas minimamente processadas**. 2003. 116p. Dissertação (Mestrado em Ciências) – Escola Superior de Agricultura ‘Luiz de Queiroz’, Universidade de São Paulo, Piracicaba, 2003.

VITTI, M.C.D. **Respostas fisiológicas e bioquímicas de diferentes cultivares de batatas ao processamento mínimo**. 2007. 97p. Tese (Doutorado em Ciências) - Escola Superior de Agricultura ‘Luiz de Queiroz’, Universidade de São Paulo, Piracicaba, 2007.

WILSKA-JESZKA, J. Proanthocyanidins: content in fruits and influence on health. **Food Chemistry**, Guildford, v.5, n.1, p.57-59, 1996.

ANEXOS

Aparência de beterrabas minimamente processadas durante o armazenamento refrigerado.